

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07K 5/02

A61P 37/08 A61K 38/55



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96198733.2

[45] 授权公告日 2003 年 11 月 12 日

[11] 授权公告号 CN 1127512C

[22] 申请日 1996. 11. 4 [21] 申请号 96198733. 2

[30] 优先权

[32] 1995. 12. 1 [33] US [31] 08/566,196

[86] 国际申请 PCT/US96/17752 1996. 11. 4

[87] 国际公布 WO97/20856 英 1997. 6. 12

[85] 进入国家阶段日期 1998. 6. 1

[71] 专利权人 阿温蒂斯药物公司

地址 美国俄亥俄州

[72] 发明人 N·P·皮特 J·P·布克哈特

S·麦迪

[56] 参考文献

WO92121240A 1992. 07. 23 C07D256/30

JOURNALOFMEDICINALCHEMISTRY, VOL. 36, NO.

22 1993 - 10 - 29 ZLIET, AL, " PEPTIDE, ALPHA -

KETOESTER, ALPHA - KETOAMIDE, AND, ALPHA - KE-

TO, ACID, INHIBITORS, OF, CALPAINS

审查员 陈晓平

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 陈文平

权利要求书 2 页 说明书 49 页

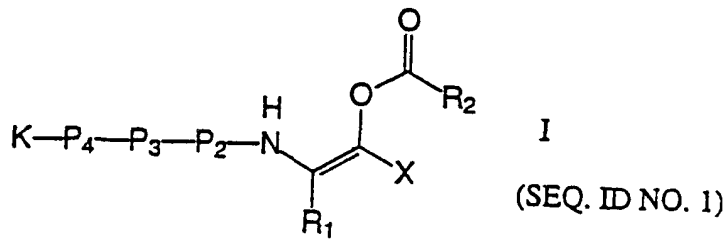
[54] 发明名称 α - 酮酯和 α - 酮酰胺的酰化烯醇
衍生物

[57] 摘要

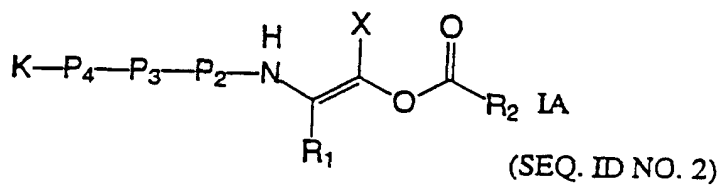
本发明涉及 α - 酮酯和 α - 酮酰胺的酰化烯醇衍生物。本发明的化合物是已知弹性蛋白酶的前药或者它们自身是弹性蛋白酶抑制剂，可用于治疗各种炎症疾病，包括囊性纤维变性和气肿。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 下式化合物或者其水合物或可药用盐



或



其中

 R_1 是 (C₁ - C₄) 烷基; R_2 是 (C₁ - C₄) 烷基;X 是 -CO₂R₃, 其中 R₃ 是 (C₁ - C₄) 烷基;P₂ 是 Pro;P₃ 是 Ala 或 Val;P₄ 是 Ala 或缺失;

K 是甲氧基琥珀酰基、4-((氯苯基)磺酰氨基羧基)苯甲酰基。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_1 是甲基、丙基或异丙基。3. 权利要求 2 的化合物, 其中 R_1 是异丙基。

4. 权利要求 1 的化合物, 其中化合物是 N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙胺酰-L-丙胺酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-。

5. 权利要求 1 的化合物, 其中化合物是 N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]

氨基]羧基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-。

6. 含有权利要求 1 的化合物和载体的组合物。

7. 含有权利要求 1 的化合物和可药用载体的组合物。

8. 权利要求 1 的化合物在制备用于抑制患者中人嗜中性白细胞弹性蛋白酶的药物中的应用。

9. 权利要求 1 的化合物在制备用于治疗与嗜中性白细胞有关的炎症疾病的药物中的应用。

10. 根据权利要求 9 的应用, 其中所述的与嗜中性白细胞有关的炎症疾病是气肿。

11. 根据权利要求 9 的应用, 其中所述的与嗜中性白细胞有关的炎症疾病是囊性纤维变性。

12. 根据权利要求 9 的应用, 其中所述的与嗜中性白细胞有关的炎症疾病是慢性障碍性肺病。

α -酮酯和 α -酮酰胺的酰化烯醇衍生物

发明背景

本发明涉及 α -酮酯和 α -酮酰胺的酰化烯醇衍生物，它们是弹性蛋白酶抑制剂或是弹性蛋白酶抑制剂的前药，应用于各种生理性和产品用途。

据显示人的嗜中性白细胞弹性蛋白酶是一种对与众多炎性疾病，如慢性支气管炎、胆囊纤维变性和类风湿关节炎有关的组织破坏有作用的物质。J. L. Malech 和 J. O. Gallin, 新英格兰医学杂志, 317(11), 687(1987)。弹性蛋白酶对包括弹性蛋白、纤连蛋白、胶原蛋白和蛋白聚糖的许多结缔组织大分子具有广泛的蛋白水解活性。弹性蛋白酶的存在与这些疾病的病理学相关。

正常血浆含有大量调节各种与结缔组织更新和发炎有关的酶的蛋白酶抑制剂。例如 α -1-蛋白酶抑制剂(α -1-PI)是一种阻断弹性蛋白酶活性的丝氨酸蛋白酶抑制剂。 α -1-PI 由于其血浆水平降低至正常值的 15% 与肺气肿的早期发展有关而十分引人注目。

除血浆产生的蛋白酶抑制剂外，分泌体液，包括支气管、鼻、宫颈粘液均含有被称为分泌性白细胞蛋白酶抑制剂(SLPI)的内源性蛋白酶抑制剂，它们可使弹性蛋白酶失活并被认为对在炎症细胞蛋白酶的存在下的维持上皮细胞的完整性起重要作用。在某些病理状态下， α -1-PI 和 SLPI 通过嗜中性白细胞氧化机制而失活，该机制使嗜中性白细胞蛋白酶在基本不含抑制剂的环境中起作用。例如，发现在患呼吸紧张综合征(ARDS)的成年患者的支气管灌洗液中含有活性弹性蛋白酶和已经氧化失活的 α -1-PI。

除氧化机制外，嗜中性白细胞还通过抗蛋白酶经非氧化机制产生抑制作用。慢性肉芽肿患者的嗜中性白细胞在过量 α -1-PI 的存在下可降解内皮细胞基质。存在大量体外证据，表明受刺激的嗜中性白细胞可与它们的底物紧密结合，从紧密的细胞-底物接触的微环境中有效排除血清抗蛋白酶。大量嗜中性白细胞迁移到炎症部位可导致该区域由于蛋白水解产生的明显

组织损伤。

本申请人先前已确认弹性蛋白酶是应答以嗜中性白细胞溶质、纯净弹性蛋白酶和受激嗜中性白细胞降解软骨基质蛋白聚糖能力测定的软骨基质变性的主要嗜中性白细胞蛋白酶的一种。此外，许用作弹性蛋白酶抑制剂、表现出有价值的药理活性的肽衍生物是本领域公知的。例如 Angelastro, M. R.等, 药物化学杂志, 37, 4538(1994)和欧洲专利申请 OPI 第 0529568 号 (发明人 Peet 等, 公开日 1993 年 3 月 3 日) 公开了多种肽, 如带有不同 N-保护基的缬氨酰脯氨酰缬氨酰五氟乙酰基酮是人嗜中性弹性蛋白酶 (HNE) 的体外和体内抑制剂并且口服对 HNE 诱导的大鼠和仓鼠肺出血模型有活性。

而且, 本领域公开了在该弹性蛋白酶抑制剂的 P₂、P₃ 和 P₄ 位允许有多个不同的氨基酸以及在仍保持酶抑制活性的同时可取代有多个 N-保护基, 尽管仅说明了某些 N-保护基的口服活性。例如, Skiles, J. W.等, 药物化学杂志, 35, 641(1992)公开多种在 P₁ 位带有三氟甲基或芳基酮残基和在 P₂ 位带有 N-取代甘氨酸残基的三肽弹性蛋白酶抑制剂。据显示在 P₂ 位甘氨酸上的取代基增大了体积和亲脂性, 其顺序为 H、CH₃、环戊基、外-降冰片烷基、2,3-二氢化茚基(2-indanyl)、环庚基、环辛基, 还有吡啶基、苄基、3,4-二甲氧基苯乙基、四氢糠基和糠基, 所观察到的体外活性没有太大变化。

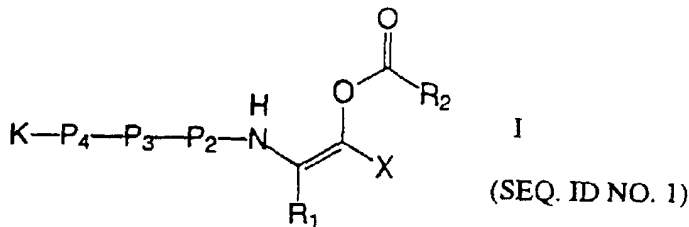
同样, 1990 年 3 月 20 日公告的 Bergeson 等的美国专利 4910190 和 1993 年 3 月 16 日公告的 Edwards 等的美国专利 5194588 及 1986 年 9 月 24 日公告的发明人为 Michael Kolb 等的欧洲专利申请第 0195212 号教导了在 P₃ 和 P₄ 位的氨基酸可允许有作为侧链的多个烷基和取代烷基。并且, 还具体包含典型 N-保护基, 如乙酰基、琥珀酰基、叔丁氧羰基、苄氧羰基和 4-((4-氯代苯基)磺酰氨基羰基)苯甲酰基等的弹性蛋白酶抑制剂。

Burkhart, J. P.等在药物化学杂志, 38, 223(1995)公开了作为弹性蛋白酶抑制剂前药的 N-[4-(4-吗啉甲酰基)-苯甲酰基]-L-缬氨酰-N-[3,3,4,4,4-五氟-1-(1-甲基-乙基)-2-氧代丁基]-L-脯氨酰胺的几种类似物, 这些类似物的 P₁ 残基不存在手性中心。本申请人最近发现了已知未氟化的弹性蛋白酶抑制剂的酰化烯醇衍生物, 它们可用作弹性蛋白酶抑制剂的前药或本身作为

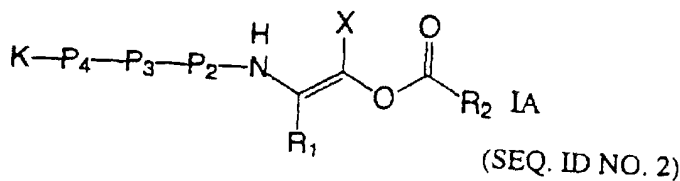
弹性蛋白酶抑制剂。

发明概述

本发明涉及下式化合物或者其水合物或可药用盐



或



其中

R_1 是(C₁-C₄)烷基；

R_2 是(C₁-C₄)烷基、苯基、苄基、环己基或环己基甲基；

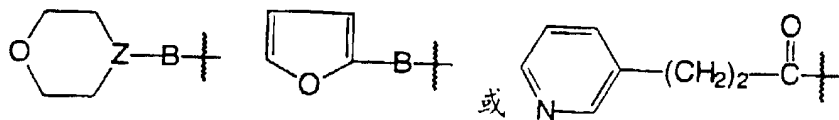
X 是-CO₂R₃ 或-CONHR₃'，其中 R₃ 是(C₁-C₄)烷基、苯基、苄基、环己基或环己基甲基并且 R₃'是氢、(C₁-C₄)烷基、苯基、苄基、环己基或环己基甲基；

P_2 Gly 或 Ala，其中α氨基的氮原子可任意被R基团取代，其中R是(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₁₂)环烷基、(C₃-C₁₂)环烷基(C₁-C₆)烷基、(C₄-C₁₁)双环烷基、(C₄-C₁₁)双环烷基(C₁-C₆)烷基、(C₆-C₁₀)芳基、(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₇)杂环烷基、(C₃-C₇)杂环烷基(C₁-C₆)烷基、(C₅-C₉)杂芳基、(C₅-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷基、稠合(C₆-C₁₀)芳基(C₃-C₁₂)环烷基、稠合(C₆-C₁₀)芳基(C₃-C₁₂)环烷基(C₁-C₆)烷基、稠合(C₅-C₉)杂芳基(C₃-C₁₂)环烷基或稠合(C₅-C₉)杂芳基(C₃-C₁₂)环烷基(C₁-C₆)烷基，或者 P_2 是 Pro、Aze、Ind、Tic、Pip、Tca、Pro(4-OBzl)、Pro(4-OAc)、Pro(4-OH)；

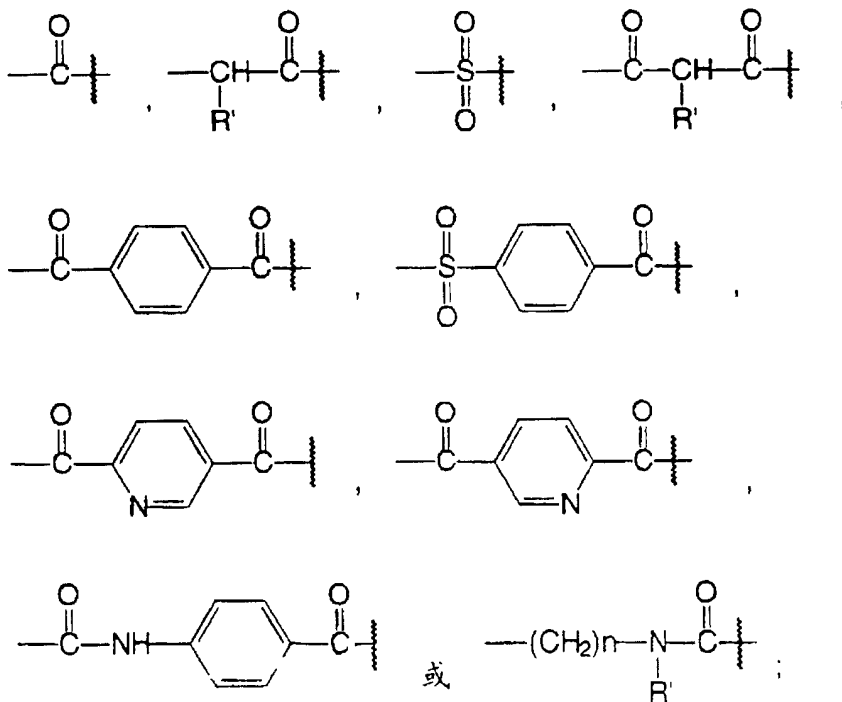
P_3 是 Ala、bAla、Leu、Ile、Nle、Val、Nva、Lys 或 bVal；

P_4 是 Ala、bAla、Val、Nva、bVal、Pro 或缺失；

K 是氢、乙酰基、琥珀酰基、苯甲酰基、叔丁氧羰基、苄氧羰基、丹酰基、异戊酰基、甲氧基琥珀酰基、1-金刚烷磺酰基、1-金刚烷乙酰基、2-羧基苯甲酰基、 $-C(O)N(CH_3)_2$ 、4-((氯苯基)磺酰氨基羰基)苯甲酰基、4-((4-溴苯基)磺酰氨基羰基)苯甲酰基、4-(磺酰氨基羰基)苯甲酰基或是下式的基团



其中 Z 是 N 或 CH，B 是下式的基团



(波浪线是与分子的其余部分，而不是与 Z 的相连处)

R' 是氢或 (C_1-C_4) 烷基；

n 是零或者 1 或 2 的整数；

它们可用作已知弹性蛋白酶抑制剂的前药或以其本身的形式抑制弹性蛋白

酶。式 I 或 IA 化合物在气肿、囊性纤维变性、成人呼吸紧张综合症、败血症、播散性血管内凝血、痛风、类风湿性关节炎、慢性支气管炎和肠炎的治疗中表现出抗炎作用；或是表现这类作用的化合物的前药。

发明详述

本文采用的术语“(C₁-C₄)烷基”意指 1 - 4 个碳原子的直链或支链烷基，如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基和异丁基等。同样，术语“(C₁-C₆)烷基”意指 1 - 6 个碳原子的直链或支链烷基，例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、正戊基、仲戊基、异戊基和正己基。术语“(C₃-C₁₂)环烷基”意指可被低级烷基取代的、由 3 - 12 元环构成的环烷基，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、4-甲基环己基、4-乙基环己基、环庚基和环辛基。术语“(C₃-C₁₂)环烷基(C₁-C₆)烷基”意指被(C₃-C₁₂)环烷基取代的(C₁-C₆)烷基，例如环己基甲基或环戊基乙基。术语“(C₄-C₁₁)双环烷基”意指含一对桥头碳原子的烷基，例如 2-双环[1.1.0]丁基、2-双环[2.2.1]己基和 1-双环[2.2.2]辛烷。术语“(C₄-C₁₁)双环烷基(C₁-C₆)烷基”意指被(C₄-C₁₁)双环烷基取代的(C₁-C₆)烷基，如 2-双环己基甲基。术语“(C₆-C₁₀)芳基”意指有共轭碳原子的环状的、芳香结构，如苯基、1-萘基和 2-萘基。术语“(C₆-C₁₀)芳基(C₁-C₆)烷基”意指被(C₆-C₁₀)芳基取代的(C₁-C₆)烷基，如苄基、苯乙基和 1-萘甲基。术语“(C₃-C₇)杂环烷基”意指非芳香的含碳环状基团，所述环状基团含 1 - 3 个选自氧、氮和硫的杂原子，如吗啉基和吡啶基。术语“(C₃-C₇)杂环烷基(C₁-C₆)烷基”意指被(C₃-C₇)杂环烷基取代的(C₁-C₆)烷基，例如吗啉代甲基。术语“(C₅-C₉)杂芳基”意指有共轭碳原子并含 1 - 3 个氮、氧和硫原子的单环或双环的芳香结构，例如吡啶基、2-喹啉基和喹啉基。术语“(C₅-C₉)杂芳基(C₁-C₆)烷基”意指被(C₅-C₉)杂芳基取代的(C₁-C₆)烷基，如 3-喹啉甲基。术语“稠合(C₆-C₁₀)芳基(C₃-C₁₂)环烷基”意指一边或多边与“(C₆-C₁₀)芳基”共享的“(C₃-C₁₂)环烷基”，因此例如可包括通过苯和环戊烷稠合衍生的基团，即 2,3-二氢茚基(2-indanyl)。术语“稠合(C₆-C₁₀)芳基(C₃-C₁₂)环烷基(C₁-C₆)烷基”意指被稠合(C₆-C₁₀)芳基(C₃-C₁₂)环烷基取代的(C₁-C₆)烷基。术语“稠合(C₅-C₉)杂芳基(C₃-C₈)环烷基”意指一边或多边与(C₃-C₈)环烷基共享的(C₅-C₉)杂芳基，因此例如可包括通过环己烷和吡啶稠合衍生的基团，即四氢喹啉。最后术语“稠合(C₅-

C₉杂芳基(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₆)烷基”意指被稠合(C₅-C₉)杂芳基(C₃-C₈)环烷基基团取代的(C₁-C₆)烷基。

术语“立体异构体”是对所有仅是其原子空间取向不同的各种分子异构体的通称术语。它包括镜像异构体(对映体)、几何异构体(顺/反式)异构体和带有不止一个彼此不成镜像的手性中心的化合物异构体(非对映体)。对于氨基酸,可采用 IUPAC-IUB 生物化学命名联合委员会在《欧洲生物化学杂志》, 138: 9 - 37(1984)中描述的 L/D 或 R/S 标准。

术语“可药用盐”是指为获得所需效果的给药剂量基本上无毒的并且不独立具有明显药理学活性的那些盐。该术语范围内包括的这些盐是氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、甲酸盐、乙酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、甘醇酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、抗坏血酸盐、 α -酮戊二酸盐、谷氨酸盐、天冬氨酸盐、马来酸盐、羟基马来酸盐、丙酮酸盐、苯乙酸盐、苯甲酸盐、对氨基苯甲酸盐、氨基甲酸盐、对羟基苯甲酸盐、水杨酸盐、羟基乙磺酸盐、乙磺酸盐、卤代苯磺酸盐、甲苯磺酸盐、萘磺酸盐、甲磺酸盐和磺胺酸盐等。

每种 α -氨基酸都具有特征性“R-基”,与 α -氨基酸的 α -碳原子相连的R-基是侧链、或残基。例如谷氨酸的R-基侧链是氢,丙氨酸的是甲基、缬氨酸的是异丙基。特定 α -氨基酸的R-基或侧链参见 A. L. Lehninger 的生物化学教科书。

除非另有说明,这些肽酶底物类似物的 α -氨基酸优选是L构型的;但是本申请人认为式1的氨基酸化合物可以是D或L构型的或者是D和L异构体的混合物,包括外消旋混合物。表I列出了 α -氨基酸的公知缩写。

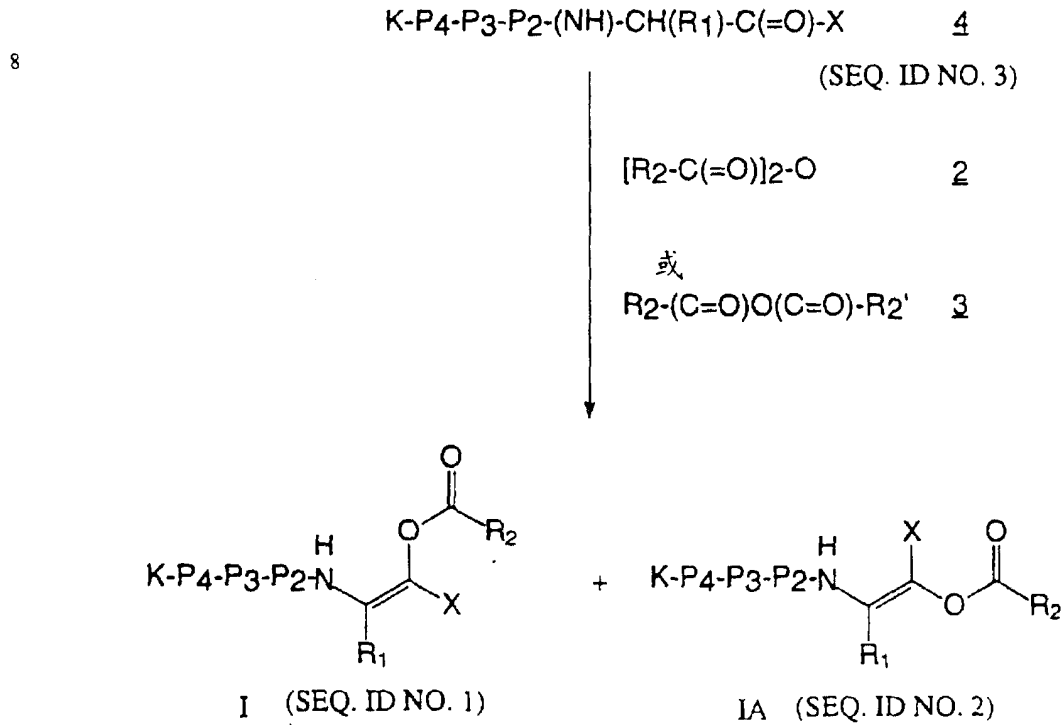
表 I

氨基酸	符号
丙氨酸	Ala
甘氨酸	Gly
异亮氨酸	Ile
亮氨酸	Leu
赖氨酸	Lys
苯丙氨酸	Phe
脯氨酸	Pro
色氨酸	Trp
酪氨酸	Tyr
缬氨酸	Val
正缬氨酸	Nva
正亮氨酸	Nle
2-吲哚羧酸	Ind
β -丙氨酸	bAla
甲硫氨酸	Met
氮杂环丁烷羧酸	Aze
4-乙酰氧基脯氨酸	Pro(4-OAc)
4-苄氧基脯氨酸	Pro(4-OBzl)
4-羟基脯氨酸	Pro(4-OH)
2-哌啶酸	Pip
噻唑烷-4-甲酸	Tca
1,2,3,4-四氢-3-异喹啉 羧酸	Tic
β -缬氨酸	bVal

通常，式 I 和 IA 化合物可采用类似于本领域公知的如方案 A 描述的普

通化学反应制备,其中术语 K、P₄、P₃、P₂、R₁、R₂和 X 如式 I 和 IA 中所定义。

方案 A



通常,式 I 和 IA 的酰化烯醇可通过式 4 的肽与合适的对称性酸酐 2 或合适的混合酸酐 3(其中 R₂'和 R₂不同,但两个 R₂基都如上所定义)在碱性胺,如叔胺三乙胺和 N-甲基吗啉,或芳香胺如 4-二甲氨基吡啶以及甲基吡啶、可力丁和吡啶的存在下反应形成。反应物可在合适的有机溶剂,如乙腈和二氯甲烷等中接触。该反应进行的时间一般为约 30 分钟至约 48 小时,反应温度为约-40 ℃-约 85 ℃。通常,低于 0 ℃ 的温度可提供高比率的 IA:I,可通过色谱或重结晶分离出纯净形式的 IA。通常,高于 0 ℃ 的反应温度可提高 I:IA 的比率,可通过色谱或重结晶分离 I。

或者,式 I 和 IA 的酰化烯醇可通过式 4 肽与合适的式 R₂-C(=O)X 酰卤(X=F、Cl、Br、I)在弱碱性胺如甲基吡啶、可力丁或吡啶的存在下反应形成。

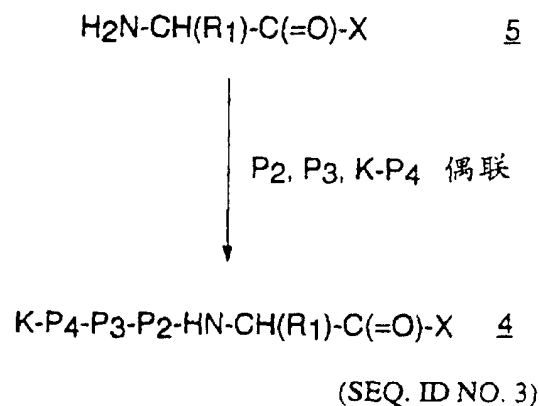
式 4 化合物公开于欧洲专利申请公告第 0195212 号(其发明者是 Michael Kolb 等,公开日为 1986 年 9 月 24 日)和 药物化学杂志, 33: 394

- 407(1990) (Peet, N. P.等)中, 这两篇文献均全文引入本文以供参考。

本文中定义的那些未公开于欧洲专利申请公告第 0195212 号(其发明者是 Michael Kolb 等, 公开日为 1986 年 9 月 24 日)或药物化学杂志, 33: 394 - 407(1990) (Peet, N. P.等)中的式 4 化合物可通过下述合成方法制备, 这些方法是本领域普通技术人员熟知和清楚的。

通常, 所有式 4 化合物可采用类似本领域公知的如方案 B 中描述的普通化学方法制备。

方案 B



方案 B 表示了制备式 4 化合物的通用合成路线。

P_2 、 P_3 和 K-P_4 基可与结构式 5 氨基酸衍生物的游离氨基相连。应注意的是结构式 5 表示其中游离羧基被如上定义的“X”部分取代的 P_1 部分。 P_2 、 P_3 和 K-P_4 可通过熟知的肽偶联技术与未保护的游离氨基化合物 ($\text{P}_1\text{-X}$) 相连。此外, P_1 、 P_2 、 P_3 和 K-P_4 基可以任何先后顺序连接在一起, 只要最终化合物是 $\text{K-P}_4\text{-P}_3\text{-P}_2\text{-P}_1\text{-X}$ 即可。例如可将 K-P_4 与 P_3 相连得到 $\text{K-P}_4\text{-P}_3$, 然后再与 $\text{P}_2\text{-P}_1\text{-X}$ 相连; 或者将 K-P_4 与 $\text{P}_3\text{-P}_2$ 相连, 然后与适当的 C-末端保护的 P_1 相连, 再将 C-末端保护基转化为 X。

一般来说, 采用所述的方法, 通过脱去 N-末端残基的 α -胺的保护和通过肽连接偶联下一个适当 N-保护的氨基酸延伸肽。重复进行该脱保护和偶联方法直至获得所需序列。如方案 B 所述, 偶联可使用氨基酸成分以分步方式进行, 或通过缩合片断(两或数个氨基酸), 或结合两种方法, 或通过按照最早由 Merrifield 在美国化学会志, 1963, 85, 2149 - 2154 中描述的固相肽合成法进行, 该文献全文引入本文以供参考。但采用固相合成法

时, C-末端羧酸与一不溶性载体(通常是聚苯乙烯)相连。这些不溶性载体包含会与羧基反应形成在延伸条件下稳定、但随后很容易裂解的键的基团。它们的实例是: 氯甲基或溴甲基树脂、羟甲基树脂和氨基甲基树脂。这些树脂中的许多有市售, 它们带有所需的容易结合的 C-末端氨基酸。

此外, 本发明的化合物可采用自动肽合成仪合成。除上述外, 肽合成法还记载在 Stewart 和 Young 的“固相肽合成法”, 第二版, Pierce Chemical Co., Rochford, IL(1984); Gross, Meienhofer, Udenfriend, Eds., “肽: 分析、合成和生物学”, 第 1、2、3、5 和 9 卷, Academic Press, New York, 1980-1987; Bodanszky, “肽化学: 实用教课书”, Springer-Verlag, New York(1988); 和 Bodanszky 等的“肽合成实践”, Springer-Verlag, New York(1984), 这些文献均全文引入本文以供参考。

两个氨基酸之间、氨基酸与肽或两个肽片断之间的偶联可采用普通的偶联方法进行, 如叠氮法、混合碳酸-羧酸酐(氯甲酸异丁酯)法、碳化二亚胺(二环己基碳化二亚胺、二异丙基碳化二亚胺或水溶性碳化二亚胺)法、活泼酯(对硝基苯酯、N-羟基琥珀酰亚氨基酯)法、Woodward 试剂 K 法、羰基二咪唑法、磷试剂如 BOP-Cl 法或氧化还原法。其中一些方法(尤其是碳化二亚胺法)可通过加入 1-羟基苯并三唑得到促进。这些偶联反应可以溶液(液相)或固相形式进行。

在偶联反应期间, 为避免形成不需要的键, 氨基酸成分的官能团通常须加以保护。可使用的保护基列于 Greene 的“有机化学中的保护基”, John Wiley & Sons, New York(1981)和“肽: 分析、合成和生物学”, 第 3 卷, Academic Press, New York(1981), 这些文献均全文引入本文以供参考。

C-末端残基的 α -羧基通常, 但并不必须被酯基保护, 酯保护基可裂解得到羧酸。可使用的保护基包括: 1) 烷基酯, 如甲基和叔丁基酯, 2) 芳基酯, 如苄基和取代的苄基酯, 或 3) 可通过温和碱处理或温和还原手段裂解的酯, 如三氯乙基酯或苯甲酰甲基酯。

需偶联到生长肽上的各氨基酸的 α -氨基须加以保护。可使用本领域公知的任何保护基。它们的实例包括: 1) 酰基类, 如甲酰基、三氯乙酰基、邻苯二甲酰基和对甲苯磺酰基; 2) 芳族氨基甲酸酯类, 如苄氧羰基(Cbz 或 Z)和取代的苄氧羰基、1-(对联苯基)-1-甲基乙氧羰基和 9-芴基甲氧羰基

(Fmoc); 3)脂族氨基甲酸酯类, 如叔丁氧羰基(Boc)、乙氧羰基、二异丙基甲氧羰基和烯丙氧羰基; 4)环烷基氨基甲酸酯类, 如环戊氧羰基和金刚烷氧羰基; 5)烷基类, 如三苯甲基和苄基; 6)三烷基甲硅烷, 如三甲基甲硅烷; 和 7)含硫醇类, 如苯硫羰基和二硫代琥珀酰基。优选的 α -氨基保护基是 Boc 或 Fmoc, 优选 Boc。许多用于肽合成的适当保护的氨基酸衍生物有市售。

新加入的氨基酸残基的 α -氨基保护基在下一个氨基酸偶联之前裂解。当使用 Boc 基时, 选择的方法是三氟乙酸本身或三氟乙酸二氯甲烷溶液, 或者盐酸二噁烷或乙酸乙酯溶液。然后将所得的铵盐在偶联之前或就地用碱性溶液, 如缓冲水溶液或叔胺的二氯甲烷或二甲基甲酰胺溶液中和。当使用 Fmoc 基时, 选择的试剂是吡啶或取代吡啶的二甲基甲酰胺溶液, 但也可使用仲胺或碱性水溶液。脱保护在 0℃ - 室温的温度下进行。

所有带有侧链官能团的氨基酸在肽制备过程中须使用上述的基团加以保护。本领域普通技术人员都清楚用于这些侧链官能团的适当保护基的选择和利用取决于氨基酸和肽中存在的其它保护基。该类保护基的选择的重要性在于在 α -氨基的脱保护和偶联过程中它不能被除去。

例如, 当使用 Boc 作为 α -氨基保护基时, 下列侧链保护基是适用的: 可使用对甲苯磺酰基保护氨基酸如 Lys 和 Arg 的氨基侧链; 使用对甲基苄基、乙酰氨基甲基、苄基(Bzl)或叔丁基磺酰基保护氨基酸如半胱氨酸的含硫醚的侧链; 可使用苄基(Bzl)醚保护氨基酸如 Ser 或 Thr 的含羟基的侧链。

当使用 Fmoc 作为 α -氨基保护基时, 通常使用基于叔丁基的保护基。例如 Boc 可用于赖氨酸, 叔丁基醚用于丝氨酸和苏氨酸, 而叔丁基酯用于谷氨酸。

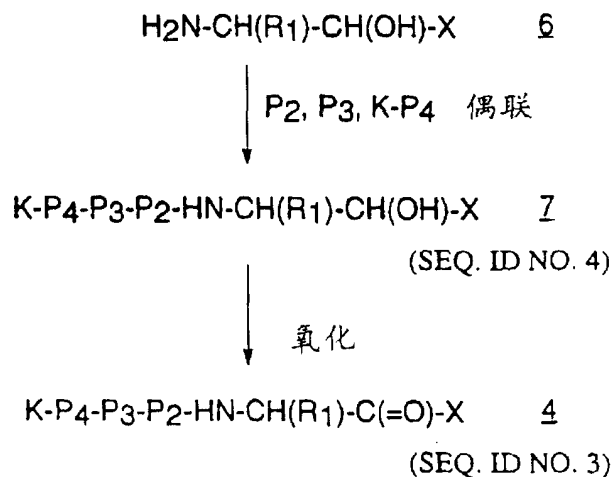
一旦肽的延伸完成, 则应除去所有的保护基。当采用液相合成法时, 根据所选择的保护基决定的方式除去保护基。这些方法是本领域普通技术人员所熟知的。

当采用固相合成法时, 一般在脱去保护基的同时从树脂上裂解下肽。当在合成中使用 Boc 保护方案时, 从树脂上裂解肽的优选方法是在 0℃ 使用含无水 HF 的添加剂, 如二甲基硫醚、茴香醚、茴香硫醚或对甲苯酚处理。肽的裂解也可使用其它酸性试剂, 如三氟甲磺酸/三氟乙酸混合物完成。

如果采用 Fmoc 保护方案, 使用先前所述的试剂裂解 N-末端的 Fmoc 基。使用三氟乙酸和各种添加剂如茴香醚等的溶液可从树脂上裂解其它保护基和肽。

或者, 式 4 化合物可采用类似于本领域公知的如方案 C 描述的普通化学反应制备。

方案 C

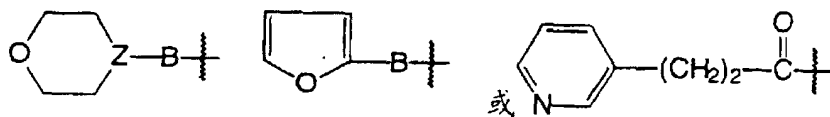


方案 C 给出了制备式 4 化合物的另一种通用合成方案。

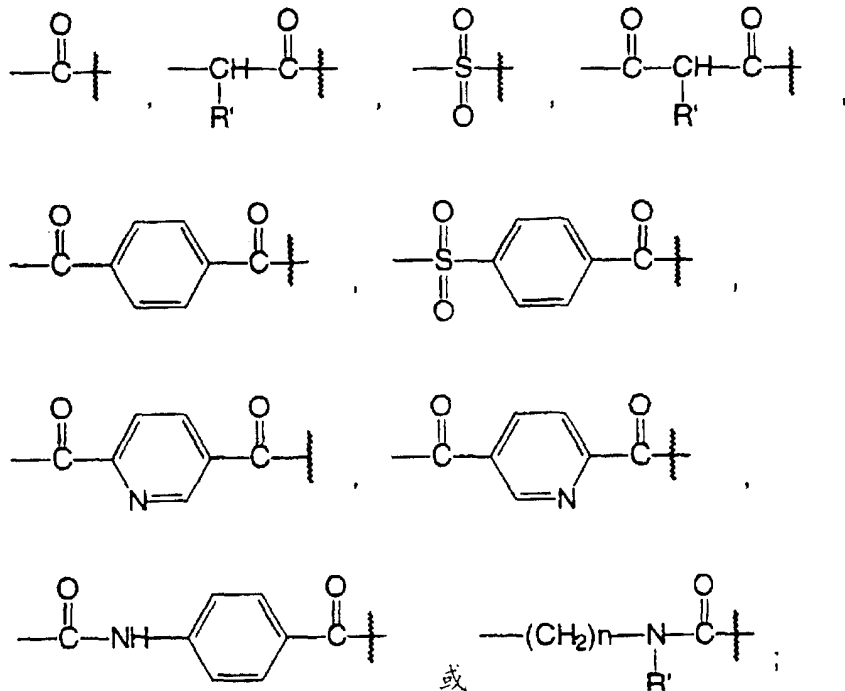
如前面的方案 B 所述, P_2 、 P_3 和 K-P_4 基可与结构式 6 的氨基醇衍生物的游离氨基相连得到结构式 7 的肽醇。

然后, 结构式 7 肽醇的醇官能团通过本领域普通技术人员所熟知的技术和方法, 例如使用草酰氯和二甲基亚砷的 Swern 氧化法氧化得到式 4 化合物。

方案 B 和 C 中使用的原料是本领域普通技术人员容易得到的。例如其中 K 是氢的氨基酸 P_2 、 P_3 和 K-P_4 有市售。此外, 其中 K 是乙酰基、琥珀酰基、苯甲酰基、叔丁氧羰基苄氧羰基、丹酰基、异戊酰基、甲氧基琥珀酰基、1-金刚烷磺酰基、1-金刚烷乙酰基、2-羧基苯甲酰基、4-((氯苯基)磺酰氨基羰基)苯甲酰基、4-((4-溴苯基)磺酰氨基羰基)苯甲酰基和 4-(磺酰氨基羰基)苯甲酰基的氨基保护基 K 记载于 1990 年 4 月 11 日公开的欧洲专利申请公告第 363284 号和 1990 年 3 月 20 日公告的美国专利第 4910190 号, 这两篇文献均全文引入本文以供参考。再有, 其中 K 是 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 或下式基团



其中 Z 是 N 或 CH，B 是下式的基团



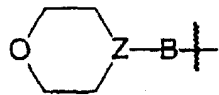
R' 是氢或(C₁-C₄)烷基；n 是零或者 1 或 2 的整数；X 是 N 或 CH；

的 K 基记载于 Angelastro, M. R. 等, 药物化学杂志, 37: 4538 - 4553(1994)和 1993 年 3 月 3 日公开的欧洲专利申请公告第 529568 号, 以及 1995 年 4 月 13 日公开的 PCT 国际公告 WO 95/09838; 这三篇文献均全文引入本文以供参考。将所述 K 基转化为 K-P₄ 取代基的合成方法是本领域普通技术人员熟知和清楚的。

式 5 起始氨基化合物是本领域普通技术人员容易得到的。例如其中 X 定义如上的某些式 5 被保护氨基化合物记载于 1986 年 9 月 24 日公开的欧洲专利申请公告第 195212 号中。该文献全文引入本文以供参考。

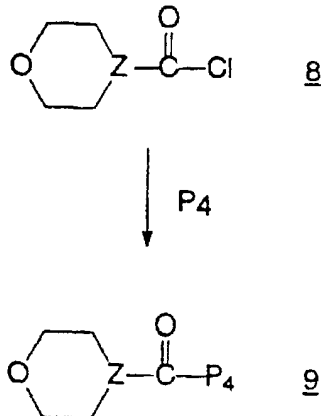
此外, 方案 B 和 C 中使用的其它原料可采用下面的合成方法制备, 这些方法是本领域普通技术人员熟知和清楚的。

其中 K 是

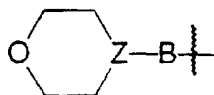


其中 B 是 $-C(=O)-$ 基的取代氨基酸 $K-P_4$ 的制备方法概括在方案 D 中, 其中 P_4 和 Z 定义如上或是这些基团的功能等同物。

方案 D

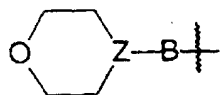


具体地说, 其中 K 是



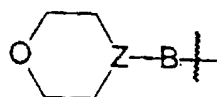
其中 B 是 $-C(=O)-$ 基的氨基酸 $K-P_4$ 通过将其中 K 是氢的 $K-P_4$ 与结构式 8 的酰氯在可用作卤化氢接受剂的一至四摩尔当量的适宜胺的存在下偶联。用作卤化氢接受剂的适宜胺是有机叔胺, 例如三(低级烷基)胺, 如三乙胺或芳族胺, 如甲基吡啶、可力丁和吡啶。当使用吡啶、甲基吡啶或可力丁时, 它们可大大过量地使用, 因此也可用作反应溶剂。特别适合于反应的 N-甲基吗啉(“NMM”)。偶联反应可通过将过量的, 如 1 - 5, 优选约 4 倍摩尔过量的胺, 然后是结构式 8 的酰氯加到其中 K 是氢的氨基酸 $K-P_4$ 的溶液中进行。溶剂可以是任意适合的溶剂, 例如石油醚; 氯代烃如四氯化碳、氯化乙烯、二氯甲烷或氯仿; 氯代芳族物质例如 1,2,4-三氯苯或邻二氯苯; 二硫化碳; 醚类溶剂如二乙醚、四氢吡喃或 1,4-二噁烷; 或芳族溶剂如苯、甲苯或二甲苯。二氯甲烷是偶联反应的优选溶剂。该反应可进行约 15 分钟

至约 6 小时，这取决于反应物、溶剂、浓度和其它因素如温度(可从 0 ℃ - 60 ℃，方便地是室温，即 25 ℃)。其中 K 是

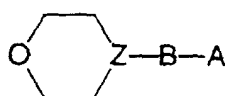


其中 B 是 -C(=O)-基的 N-保护氨基酸 K-P₄ 可通过适当技术如通过硅胶色谱从反应混合物中分离。

其中 K 是

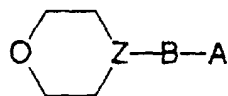


其中 B 不是 -C(=O)-基的取代氨基酸 K-P₄ 可类似地制备，不同仅是使用下式的合适中间体



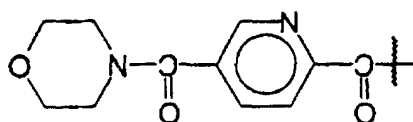
其中 B 不是 -C(=O)-基，而 A 是 Cl 或 OH(相应的酸、酰氯或磺酰氯) 替代方案 D 中的结构式 8 化合物。

结构式 8 的酰氯和下式的合适中间体



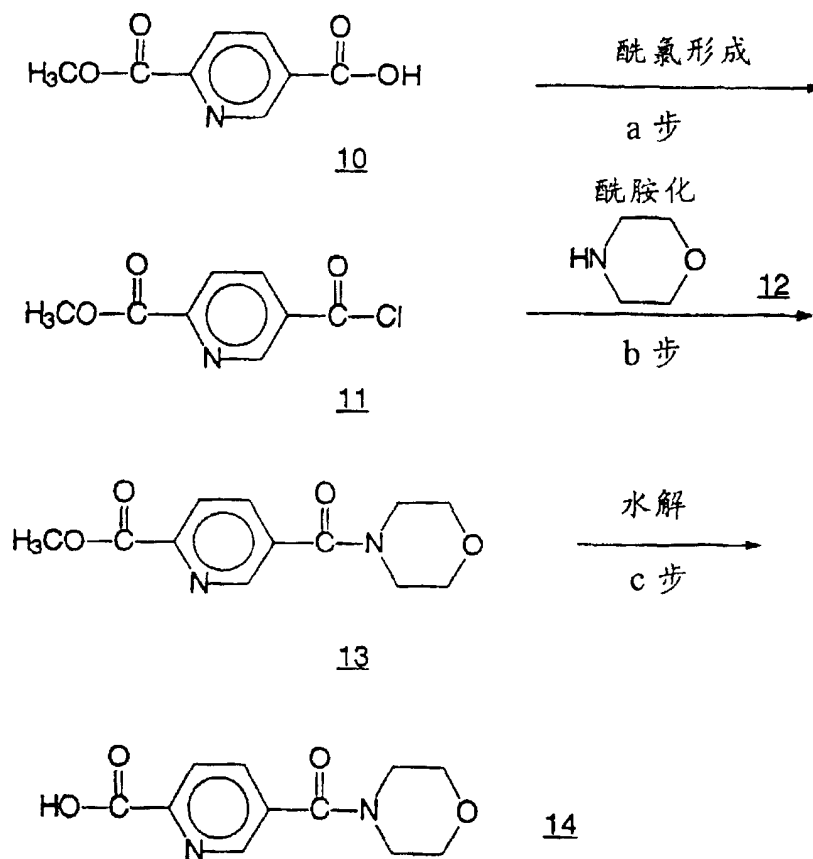
其中 B 不是 -C(=O)-基，而 A 是 Cl 或 OH 均有市售或可以采用本领域普通技术人员熟知或清楚的技术和方法方便地制备。

例如下式的合适中间体

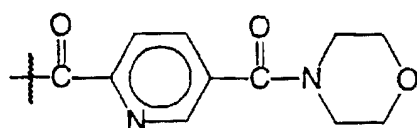


可用方案 E 概括的方法制备，其中所有取代基均定义如上。

方案 E



方案 E 给出了制备其中乙定义如上的下式的合适中间体的通用合成方法。



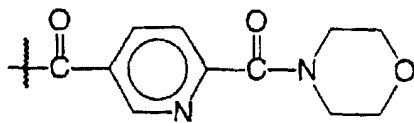
在 a 步中，使用本领域普通技术人员熟知和清楚的技术和方法，将适

当的 2,5-吡啶二羧酸 2-甲基酯 10 (*Nippon Kagaku Zasshi*, 1967, 88, 563) 的羧酸官能团转化为其酰氯, 如亚硫酸酰氯, 得到相应的 6-甲酯基烟酰氯 11。

在 b 步中, 酰氯 11 通过本领域普通技术人员熟知的技术和方法用吗啉 12 酰化, 得到相应的 5-(吗啉-4-羰基)-2-吡啶羧酸甲酯 13。

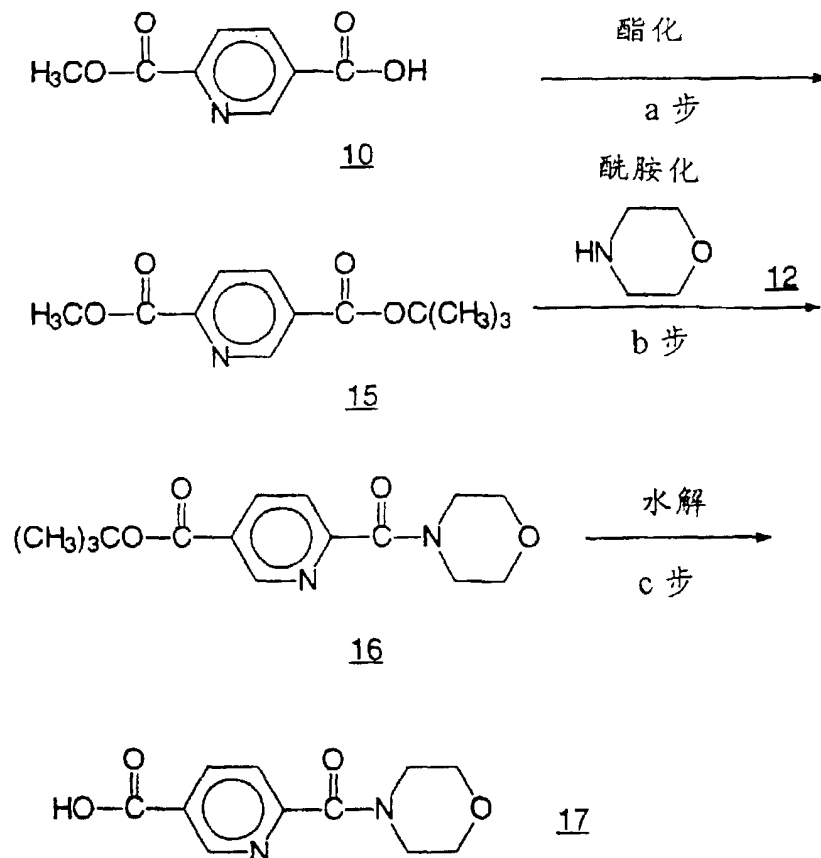
在 c 步中, 13 的甲酯官能团通过本领域普通技术人员熟知的技术和方法, 例如用氢氧化锂甲醇溶液水解, 得到 5-(吗啉-4-羰基)-2-吡啶羧酸 14。

此外, 下式的适当中间体

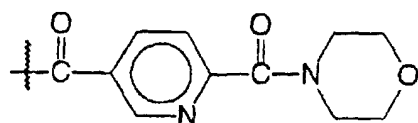


可如方案 F 中概括的方法制备, 其中所有取代基均定义如上。

方案 F



方案 F 给出了制备下式的适当中间体的通用合成方法,



其中 Z 定义如上。

在 a 步中，使用本领域普通技术人员熟知和清楚的技术和方法，将 2,5-吡啶二羧酸 2-甲基酯 10 (*Nippon Kagaku Zasshi*, 1967, 88, 563) 的游离羧酸官能团转化为其叔丁酯，如用二环己基碳化二亚胺的叔丁醇加成化合物 (*Synthesis*, 1979, 570)，得到相应的 2,5-吡啶二羧酸 2-甲酯 5-叔丁酯 15。

例如，使 2,5-吡啶二羧酸 2-甲酯 10 与摩尔数过量的二环己基碳化二亚胺的叔丁醇加成化合物在适当的有机溶剂如二氯甲烷中结合。该反应一般在 0 °C - 室温的温度范围内进行 2 - 24 小时。2,5-吡啶二羧酸 2-甲酯 5-叔丁酯 15 可通过本领域公知的普通萃取方法从反应混合物中分离并可通过重结晶纯化。

在 b 步中，15 的甲酯官能团用吗啉 12 酰化，得到相应的 6 - (吗啉 - 4 - 羧基) 烟酸叔丁酯 16。

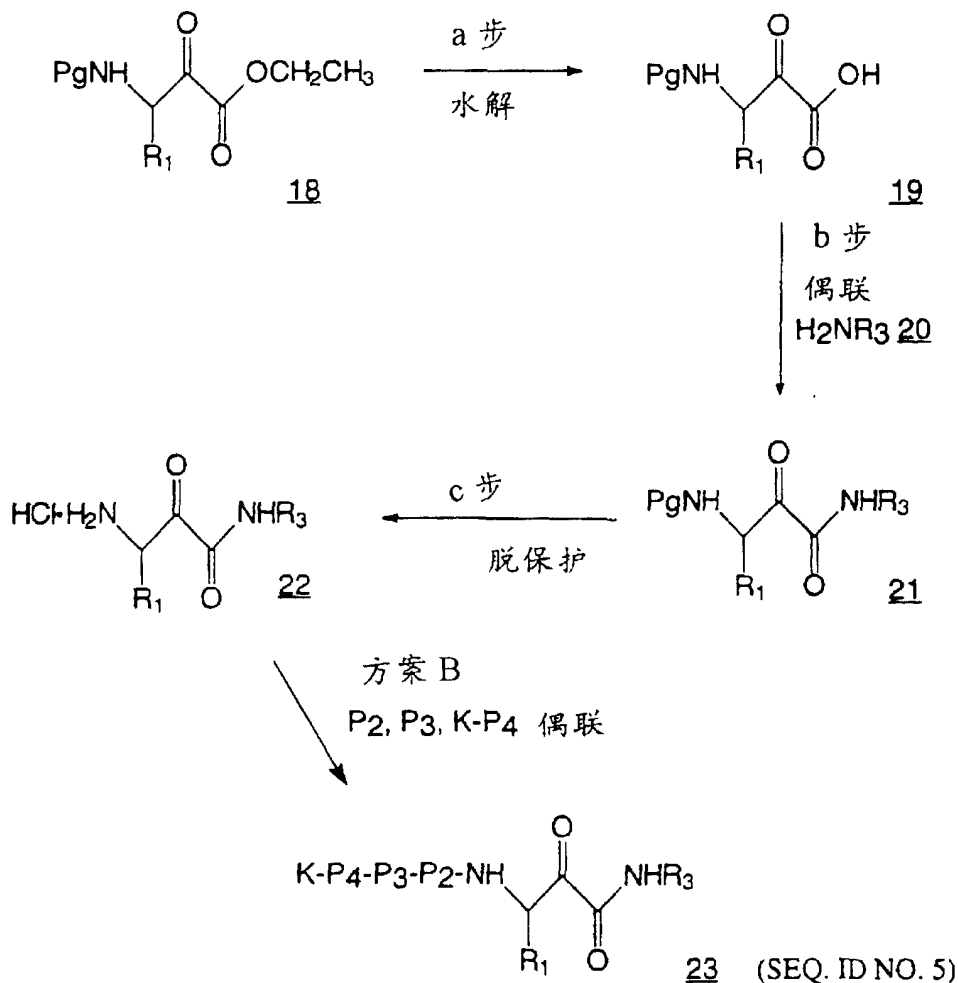
例如，2,5-吡啶二羧酸 2-甲酯 5-叔丁酯 15 与摩尔数过量的吗啉在合适的有机溶剂如四氢呋喃中接触。该反应一般在室温至回流温度范围内进行 5 小时至 3 天。6-(吗啉-4-羧基)烟酸叔丁酯 16 可通过本领域公知的普通萃取方法从反应混合物中分离并可通过重结晶纯化。

在 c 步中，16 的叔丁酯官能团例如用盐酸的硝基甲烷溶液水解，得到 6-(吗啉-4-羧基)烟酸 17。

通常，式 4 或 5 化合物可采用类似于本领域公知的普通化学反应制备。其中 X 是 -CO₂R₃ 的式 5 或 6 化合物，即 α-酮酯化合物可通过下述方法制备：*Angelastro, M. R.* 等，*药物化学杂志*, 33, 11(1990); *Peet, N.P.* 等，*药物化学杂志*, 33, 394(1990); *Mehdi, S.* 等，*生物化学和生物物理学研究通讯*, 166, 595(1990) 和欧洲专利申请 OPI 第 0195212 号 (发明者 *Michael Kolb* 等，公开日 1986 年 9 月 24 日)，这四篇文献均全文引入本文以供参考。

其中 X 是 $-\text{CONHR}_3$ 的式 4 或 5 化合物, 即 α -酮酰胺化合物可按照 1995 年 4 月 13 日公开的 PCT 国际申请 WO 95/09838 中的描述制备, 该文献全文引入本文以供参考。其中 X 是 $-\text{CONHR}_3$ 的式 4 或 5 化合物也可按照方案 G 描述的方法制备。除非另有说明, 所有取代基均定义如上。试剂和原料均是本领域普通技术人员易得的。

方案 G



所需的 α -酮酯 18 原料可按照下述方法制备: Angelastro, M. R. 等, 药物化学杂志, 33, 11(1990); Peet, N.P. 等, 药物化学杂志, 33, 394(1990); Mehdi, S. 等, 生物化学和生物物理学研究通讯, 166, 595(1990) 和欧洲专利申请 OPI 第 0195212 号(发明者 Michael Kolb 等, 公开日 1986 年 9 月 24 日)。术语“Pg”是指如前面详细描述适当保护基。

在方案 G 的 a 步中, 通过用适当的碱处理将 α -酮酯 18 选择性水解为 α -

酮酸 19。

例如，将适当取代的 α -酮酯 18 溶于适合的溶剂混合物中，如甲醇:水 (50:50)中，用一当量的适宜碱如氢氧化锂处理。该反应在约 0 °C - 30 °C 的温度下搅拌约 1 - 10 小时。然后通过本领域熟知的萃取技术分离 α -酮酸 19。例如反应用适当的有机溶剂如乙酸乙酯和等体积的水稀释。分层。水层用稀盐酸酸化并用合适的有机溶剂如乙酸乙酯萃取。将合并的有机相经无水硫酸镁干燥，过滤并真空浓缩，得到 α -酮酸 19。

在方案 G 的 b 步中， α -酮酸 19 与伯胺 20 在本领域公知的条件下偶联，得到所需的 α -酮酰胺 21。

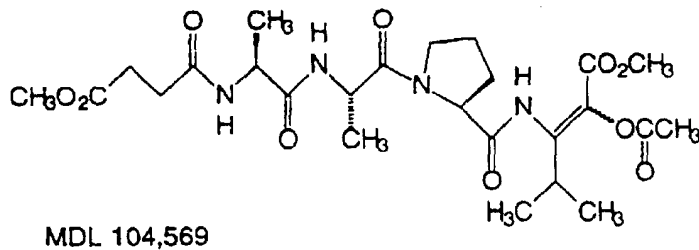
例如，将适当取代的 α -酮酸 19 溶于合适的有机溶剂，如二氯甲烷中。然后将该溶液用一当量 1-羟基苯并三唑、一当量二异丙基乙基胺和过量伯胺 20 处理。加入一当量的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐，使该反应在约 0 °C - 25 °C 的温度下搅拌约 2 - 10 小时。然后通过本领域熟知的技术分离产物。例如，反应物用乙酸乙酯稀释，用冷的 0.5N 盐酸、饱和碳酸氢钠漂洗，经无水硫酸镁干燥、过滤并真空浓缩，得到 α -酮酰胺 21。

在方案 G 的 c 步中， α -酮酰胺 21 在本领域熟知的条件下脱保护(如 T.H. Green, “有机合成中的保护基”, John Wiley and Sons, 1981, 第 7 章), 得到脱保护的 α -酮酰胺 22。例如，当“Pg”是叔丁氧羰基(Boc)时，将 α -酮酰胺 21 溶于合适的溶剂，如乙酸乙酯中，用过量氯化氢气处理并在约 0 °C - 30 °C 搅拌约 30 分钟至 4 小时。然后真空萃取溶剂，得到脱保护的盐酸盐形式的 α -酮酰胺 22。

随后在方案 B 中描述的反应条件下处理脱保护的 α -酮酰胺 22，得到式 23 的化合物。

下列实施例表示了代表性的合成。这些实施例仅是说明性的，而不旨在以任何方式限制本发明的范围。本文中采用的下述术语具有下列含义：

“g”是指克；“mmol”是指毫摩尔；“mL”是指毫升；“bp”是指沸点；“°C”是指摄氏度；“mm Hg”是指水银的毫米数；“ μ L”是指微升；“ μ g”是指微克；以及“ μ M”是指微摩尔。

实施例 1**N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙胺酰-L-丙胺酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-和(Z)-混合物(SEQ. ID NO.6)的制备**

方案 A：往在 N_2 下搅拌并冷却到 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 的吡啶(1.25ml)中加入 $\text{MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-CO}_2\text{CH}_3$ (156mg, 0.30mmol) (Peet, N.p.等, 药物化学杂志, 33, 394(1990); 或 Angelastro, M.R.等, 药物化学杂志, 33, 11(1990)), 数分钟后加入乙酸酐(0.29ml, 3.0mmol)。该反应混合物用二氯甲烷稀释(30ml)并用 0.3N HCl(2 x 20ml)洗涤, 然后用盐水(15ml)洗涤。干燥(MgSO_4), 过滤并浓缩, 得到粗产物。进行快速层析法(4 x 14 cm 硅胶柱), 用丙酮的乙酸乙酯溶液梯度洗脱(25-50%), 得到无色油状标题化合物(88mg, 53%, E:Z 异构体比例 \approx 9:1)。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400Mhz) δ 10.16(br s, 0.9H, E 异构体的 $\text{CONHC}=\text{C}$), 8.23(br s, 0.1H, Z 异构体的 $\text{CONHC}=\text{C}$), 7.49(br d, 0.1H, Z 异构体的 NH), 7.17(br d, 0.9H, E 异构体的 NH), 6.50(br d, 0.1H, Z 异构体的 NH), 6.43(br d, 0.9H, E 异构体的 NH), 4.18-4.72(m, 1.1H, E 异构体中 Ala 的 CH 和 Z 异构体中 Ala 的 CH 以及 Z 异构体中 Pro 的 CH), 4.64(t, 0.1H, Z 异构体中 Ala 的 CH), 4.58-4.48(m, 1.8H, E 异构体中 Ala 的 CH 和 E 异构体中 Pro 的 CH), 3.76-3.63(m, 2.7H, 两种异构体的 CH_2N 和 Z 异构体的 2 个 OCH_3 以及 Z 异构体的 CH), 3.42(七重峰, 0.9H, E 异构体的 CH), 3.68(s, 2.7H, E 异构体的 OCH_3), 3.66(s, 2.7H, E 异构体的 OCH_3), 2.68-2.60 和 2.53-2.45(pr m, 4H, 两种异构体的 $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2.22-1.95(m, 4H, 两种异构体的 CH_2CH_2),

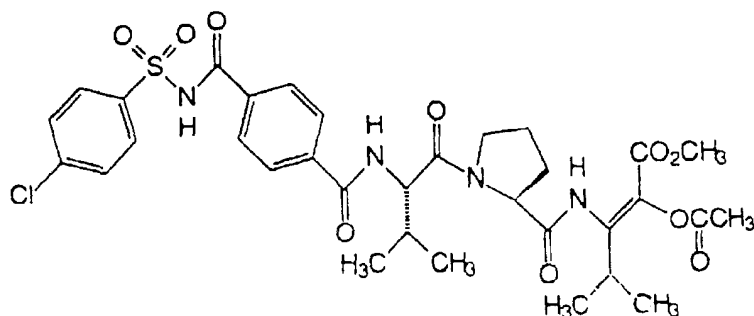
2.20(s, 3H, 两种异构体的 CH₃CO), 1.37(d, 2.7H, Z 异构体中 Ala 的 CH₃), 1.32(d, 2.7H, E 异构体中 Ala 的 CH₃), 1.27(d, 0.3H, Z 异构体中 Ala 的 CH₃), 1.25(d, 0.3H, Z 异构体中 Ala 的 CH₃), 1.14 和 1.13(pr d, 5.4H, E 异构体中 Val 的 2 个 CH₃), 1.05 和 1.02(pr d, 0.6H, Z 异构体中 Val 的 2 个 CH₃)。

MS(Cl, CH₄) m/z (相对强度) 555(MH⁺, 62), 354(38), 299(100)。

HRMS C₂₅H₃₉N₄O₁₀ (MH⁺) 计算值 555.2666, 实测直 555.2669。

实施例 2

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羧基]苯甲酰基]-L-缬氨酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酰胺, (E)-异构体的制备



MDL 105,565

方案 A: 将 N-(4-((4-氯苯基)磺酰氨基羧基)苯基羧基 - Val-Pro-Val-CO₂CH₃ (135mg, 0.20mmol) (Mehdi, S 等, 生物化学和生物物理学研究通讯, 166, 595(1990)) 用乙酸酐 (0.19ml, 2.0mmol) 的吡啶 (1.0ml) 溶液处理, 然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC (用乙酸乙酯展开), 得到白色泡沫状标题化合物 (23mg, 16%)。

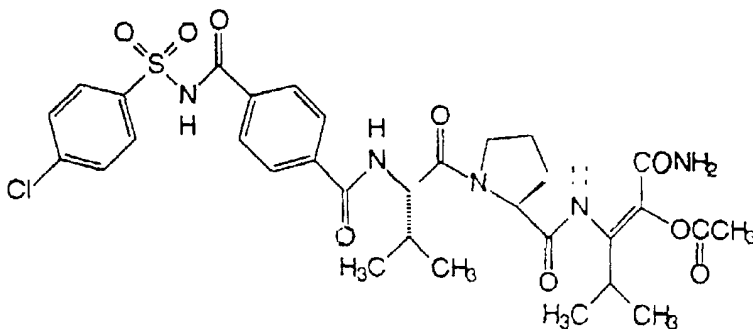
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 10.40 (br s, 1H, CONHC=C), 8.11-8.05 (m, 2H, 芳基), 7.78-7.71 (m, 2H, 芳基), 7.71-7.63 (m, 2H, 芳基), 7.55-7.49 (m, 2H, 芳基), 7.24 (br d, 1H, NH of Val), 4.98 (dd, 1H, CH), 4.46 (dd, 1H, CH), 4.02-3.89 和 3.89-3.76 (pr m, 2H, CH₂N), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.47 (七重峰, 1H, CHC=C), 2.39-1.96 (m, 5H, CH₂CH₂ 和 CH), 2.21 (s, 3H, CH₃CO), 1.17 和 1.16 and 1.07 和 0.94 (4 个 d, 12H, 4 x CH₃)。

MS (CI, CH₄) m/z (相对强度) 749 (1), 747 (M+C₂H₅⁺, 2),
721 (4), 719 (M⁺H, 10), 299 (100).

HRMS C₃₃H₄₀ClN₄O₁₀S (M⁺H) 计算值719.2154, 实测值719.2146.

实施例 3

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羧基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-氨基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-异构体的制备



a) N-(4-((4-氯苯基)磺酰氨基羧基)苯甲酰基-Val-Pro-Val-COOH) 的制备

方案 G, a 步: 将 N-(4-((4-氯苯基)磺酰氨基羧基)苯甲酰基-Val-Pro-Val-CO₂CH₃(677mg, 1.0mmol)溶于 THF:甲醇:水(1:1:1)的混合溶剂(30ml)中, 用 1.0N 氢氧化钾水溶液(2.2ml, 2.2mmol)处理。将该反应混合物在 0℃搅拌 3 小时。然后, 该反应混合物用乙酸乙酯(100ml)稀释, 再用等体积水稀释。分层后, 缓慢地将 1N 盐酸(3ml)加到水层, 并用乙酸乙酯萃取(3 x 25ml)。合并的有机萃取液经无水硫酸镁干燥、过滤并展开浓缩, 得到标题化合物。

b) N-(4-((4-氯苯基)磺酰氨基羧基)苯甲酰基-Val-Pro-Val-CONH₂) 的制备

方案 G, b 步: 将实施例 3(a)的产物溶于二氯甲烷(20ml)。然后往该反应混合物中加入 1-羟基苯并三唑(68mg, 0.5mmol)和二异丙基乙基胺(0.17ml, 1.0mmol)并吹入三当量的干燥氨(26mg, 1.5mmol)。随后往反应混

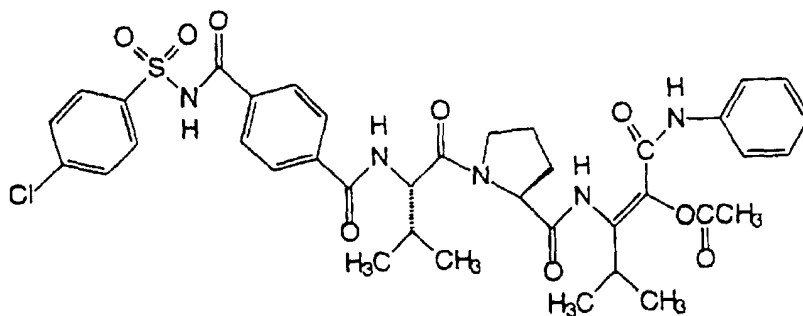
合物中加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐(96mg, 0.5mmol)并在 0℃ 搅拌 4 小时。该反应混合物用二氯甲烷(10ml)稀释, 用冷的 0.5N HCl(15ml)和饱和碳酸氢钠水溶液(15ml)漂洗。然后经无水硫酸镁干燥、过滤并真空浓缩, 得到标题化合物。

c) N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羧基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-氨基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-异构体的制备

方案 A: 将实施例 3(b)的产物(141mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理, 然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备分离, 得到标题化合物。

实施例 4

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羧基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[1-(1-甲基乙基)-3-氧代-2-(乙酰氧基)-3-(苯氨基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-异构体的制备



a) N-(4-((4-氯苯基)磺酰氨基羧基)苯甲酰基-Val-Pro-Val-CONHC₆H₅)的制备

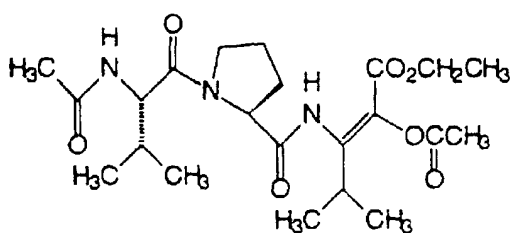
方案 G, b 步: 将苯胺(46μg, 0.5mmol)与 3(a)的产物以类似于实施例 3(b)的方法进行偶联, 得到标题产物。

b) N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羧基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[1-(1-甲基乙基)-3-氧代-2-(乙酰氧基)-3-(苯氨基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-异构体的制备

方案 A：将实施例 4(a)的产物(156mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理，然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离，得到标题化合物。

实施例 5

N-乙酰基-L-缬氨酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酰胺, (E)-异构体的制备



a) 3-氨基-2-羟基-4-甲基戊酸乙酯·盐酸盐的制备

将 3-氨基-2-羟基-4-甲基戊酸(0.89g, 6.05mmol)(Peet, N.P.等, 药物化学杂志, 33, 394(1990))在 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ 中(先是 25ml, 然后是 20ml)用氯化氢气处理。浓缩并经氢氧化钾小丸干燥, 得到标题化合物。

b) 3-[(N-乙酰基-L-缬氨酰-L-脯氨酰)氨基]-2-羟基-4-甲基戊酸乙酯的制备

将 NMM(0.22ml, 2.00mmol)和 Ac-Val-Pro-OH(531mg, 2.00mmol)的乙腈(20ml)溶液冷却到 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 并加入 $i\text{-BuOCOC}\text{Cl}$ (0.26ml, 2.00mmol)。10 分钟后, 加入实施例 5(a)的产物(423mg, 2.00mmol)和 N-甲基吗啉(0.22ml, 2.0mmol)的氯仿(3ml)溶液并使该反应混合物缓慢温热到室温。2.5 小时后, 用二氯甲烷稀释反应混合物, 用 0.5N HCl(2 x 15ml)和饱和碳酸氢钠水溶液(2 x 15ml)洗涤。硫酸镁干燥、过滤并浓缩, 得到粗产物。进行快速层析, 得到标题化合物。

c) N-乙酰基-L-缬氨酰-N-[3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-2,3-二氧代丙基]-L-脯氨酰胺的制备

往冷却到 $-60\text{ }^\circ\text{C}$ 的搅拌的草酰氯(0.12ml, 1.43mmol)的二氯甲烷(1.5ml)溶液中加入 DMSO(0.20ml, 2.86mmol)的二氯甲烷溶液(0.5ml)。5 分钟

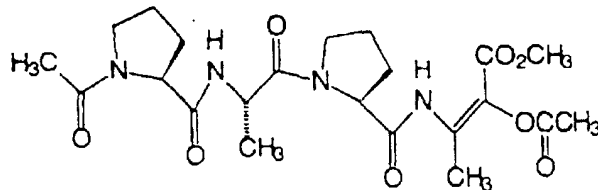
后,加入实施例 5(b)产物(298mg, 0.72mmol)的氯仿(1.5ml)溶液。继续在-60℃搅拌 25 分钟。加入三乙胺(0.50ml, 3.58mmol)后,使该混合物温热到室温并直接上快速层析柱。合并并浓缩含产物的馏分,得到标题化合物。

d) N-乙酰基-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-异构体的制备

方案 A: 将实施例 5(c)的产物(83mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理,然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离,得到标题化合物。

实施例 6

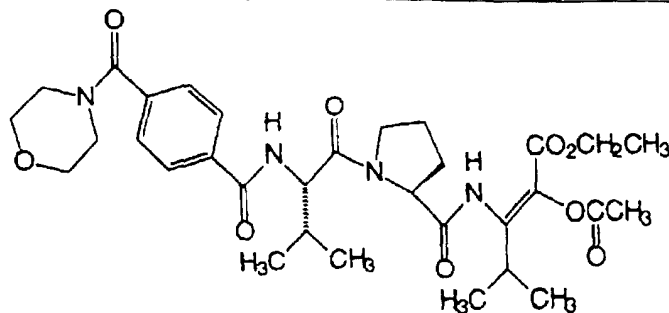
N-乙酰基-L-脯氨酸-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-异构体(SEQ. ID NO. 7)的制备



方案 A: 将 N-乙酰基-L-脯氨酸-L-丙氨酸-N-[3-甲氧基-1-甲基-2,3-二氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺(88mg, 0.20mmol)(Peet, N.P.等, 药物化学杂志, 33, 394(1990))用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理,然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离,得到标题化合物。

实施例 7

N-[4-(4-吗啉甲酰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-异构体的制备



a) 3-[(N-Boc-L-缬氨酰-L-脯氨酰)氨基]-2-羟基-4-甲基戊酸乙酯的制备

将 Boc-Val-Pro-OH(630mg, 2.00mmol)与实施例 5(a)的产物(423mg, 2.00mmol)以类似于实施例 5(b)描述的方法进行偶联, 得到标题化合物。

b) N-Boc-L-缬氨酰-N-[3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-2,3-二氧代丙基]-L-脯氨酰胺的制备

将实施例 7(a)的产物(338g, 0.72mmol)以类似于实施例 5(c)描述的方法进行氧化, 得到标题化合物。

c) N-L-缬氨酰-N-[3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-2,3-二氧代丙基]-L-脯氨酰胺盐酸盐的制备

往冷却(0℃)的实施例 7(b)的产物(0.94g, 2.00mmol)的乙酸乙酯(50ml)溶液中吹入氯化氢气 5 分钟。将该反应混合物在 0℃搅拌 1.5 小时并真空除去溶剂, 得到标题化合物, 该化合物无需进一步纯化即可使用。

d) N-[4-(4-吗啉甲酰基)苯甲酰基]-L-缬氨酰-N-[3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-2,3-二氧代丙基]-L-脯氨酰胺的制备

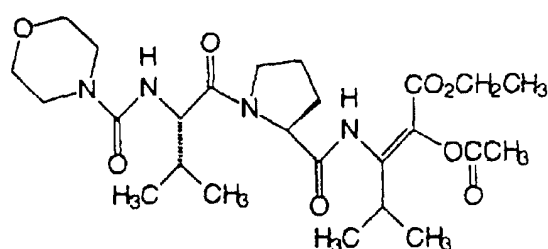
往搅拌的 4-(4-吗啉甲酰基)-苯甲酸(235mg, 1.0mmol)(Angelastro, M.R. 等, 药物化学杂志, 37, 4538(1994))和苄基三乙基氯化铵(2mg)的 1,2-二氯乙烷(5ml)悬浮液中加入亚硫酰氯(88μl, 1.2mmol)并加热至回流。19 小时后, 使溶液冷却到室温并浓缩, 得到亮橙色液体状酰氯, 该溶液无需纯化即可进一步使用。在分液烧瓶中, 将搅拌的实施例 7(c)的产物(406mg, 1.0mmol)的二氯甲烷(10ml)溶液冷却到-20℃。加入 NMM(0.33ml, 3.0mmol)后, 立即以使内部反应温度保持不高于-13℃的速率加入所述酰氯的二氯甲烷(5ml)溶液。添加完毕后, 使该反应混合物温热到室温。过 2 小时后, 该反应混合物用二氯甲烷(20ml)稀释并用 0.5N HCl(2 x 15ml)、饱和碳酸氢钠(2 x 15ml)和盐水(15ml)洗涤。干燥并浓缩, 得到标题化合物粗品。经快速层析, 得到标题化合物。

e) [4-(4-吗啉甲酰基)苯甲酰基]-L-缬氨酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酰胺, (E)-异构体的制备

方案 A：将实施例 7(d)的产物(117mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理，然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离，得到标题化合物。

实施例 8

N-(4-吗啉甲酰基)-L-缬氨酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸，(E)-异构体的制备



a) N-(4-吗啉甲酰基)-L-缬氨酰-N-[3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-2,3-二氧代丙基]-L-脯氨酸的制备

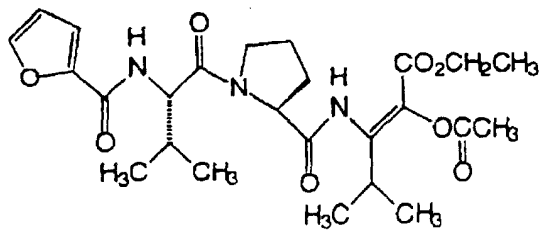
往实施例 7(c)的产物(406mg, 1.0mmol)的二氯甲烷(20ml)溶液中加入 4-吗啉基甲酰氯(0.47ml, 4.0mmol)和 NMM(0.5ml, 5.0mmol)。将该混合物搅拌 2.5 小时，浓缩溶剂并经快速层析法纯化残余物，得到标题化合物。

b) N-[4-(4-吗啉甲酰基)苯甲酰基]-L-缬氨酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸，(E)-异构体的制备

方案 A：将实施例 8(a)的产物(97mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理，然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离，得到标题化合物。

实施例 9

N-(2-咪喃甲酰基)-L-缬氨酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸，(E)-异构体的制备



a) N-(2-呋喃甲酰基)-L-缬氨酸-N-[3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-2,3-二氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺的制备

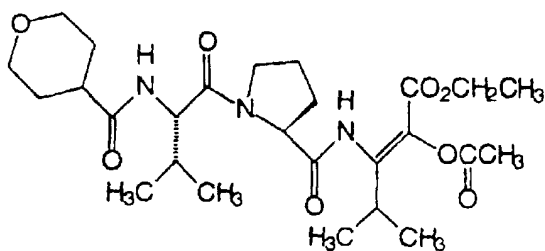
以类似于实施例 8(a)所述的方法，在 NMM(0.33ml, 3.0mmol)的存在下，使 2-呋喃甲酰氯(0.10ml, 1.0mmol)与实施例 7(c)的产物偶联，得到标题化合物。

b) N-(2-呋喃甲酰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-异构体的制备

方案 A：将实施例 9(a)的产物(93mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理，然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离，得到标题化合物。

实施例 10

N-[(四氢-2H-吡喃-4-基)羰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-异构体的制备



a) N-[(四氢-2H-吡喃-4-基)羰基]-L-缬氨酸-N-[3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-2,3-二氧代丙基]-L-脯氨酸酰胺的制备

往四氢-2H-吡喃-4-甲酸(130mg, 1.0mmol)(Angelastro, M.R.等, 药物化学杂志, 37, 4538(1994))和 DMF(0.1ml)在二氯甲烷中的混合物中加入

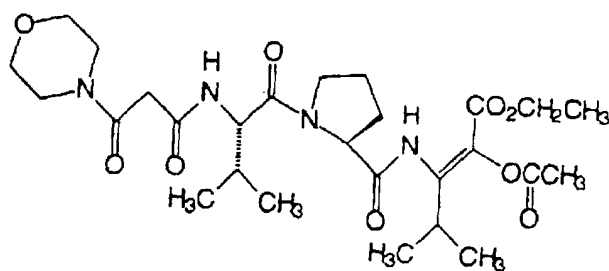
草酰氯(1.0mmol, 87 μ l)。在室温搅拌 0.5 小时后, 加入 NMM(3.0mmol, 0.33ml)和实施例 7(c)的产物(406mg, 1.0mmol)。将该混合物搅拌 2.5 小时后, 倾入水中并用二氯甲烷萃取。合并、干燥(硫酸镁)并浓缩该萃取液。经快速色谱得到标题化合物。

b) N-[(四氢-2H-吡喃-4-基)羧基]-L-缬氨酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酰胺, (E)-异构体的制备

方案 A: 将实施例 10(a)的产物(96mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理, 然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离, 得到标题化合物。

实施例 11

N-[3-(4-吗啉基)-1,3-二氧代丙基]-L-缬氨酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酰胺, (E)-异构体的制备



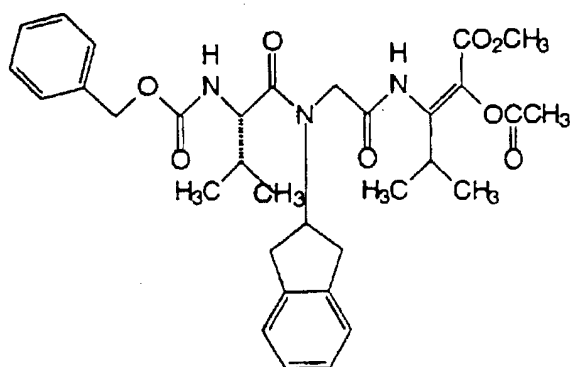
a) N-[3-(4-吗啉基)-1,3-二氧代丙基]-L-缬氨酰-N-[3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-2,3-二氧代丙基]-L-脯氨酰胺的制备

以类似于实施例 10(a)所述的方法, 在 NMM(0.33ml, 3.0mmol)的存在下, 2-(4-吗啉甲酰基)乙酸(173mg, 1.0mmol) (Angelastro, M.R.等, 药物化学杂志, 37, 4538(1994))用草酰氯(87 μ l, 1.0mmol)活化并与实施例 7(c)的产物(406mg, 1.0mmol)偶联。经快速层析纯化, 得到标题化合物。

b) N-[3-(4-吗啉基)-1,3-二氧代丙基]-L-缬氨酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酰胺, (E)-异构体的制备

方案 A: 将实施例 11(a)的产物(105mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml,

基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-甘氨酸胺, (E)-异构体的制备



a) CBZ-Val-N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)Gly-Val(OH)-CO₂CH₃ 的制备

以类似于实施例 5(b)的方式, 将 N-(苄氧羰基)-L-缬氨酸-N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)甘氨酸(425mg, 1.0mmol)(Skiles, J.W.等, 药物化学杂志, 35, 641(1992))与 3-氨基-2-羟基-4-甲基戊酸甲酯(161mg, 1.0mmol)(Peet, N.P.等, 药物化学杂志, 33, 394(1990))偶联, 得到标题化合物。

b) CBZ-Val-N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)Gly-Val-CO₂CH₃ 的制备

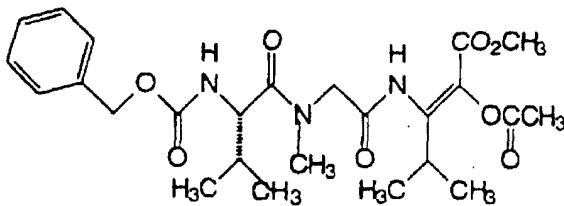
按照实施例 5(c)所述的氧化方法, 由实施例 13(a)的产物(284mg, 0.5mmol)制备该标题化合物。

c) N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-甘氨酸胺, (E)-异构体的制备

方案 A: 将实施例 13(b)的产物(113mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理, 然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离, 得到标题化合物。

实施例 14

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-甲基-甘氨酸胺, (E)-异构体的制备



a) CBZ-Val-N-(甲基)Gly-Val(OH)-CO₂CH₃ 的制备

以类似于实施例 5(b)的方式, 将 N-(苄氧羰基)-L-缬氨酸-N-(甲基)甘氨酸(322mg, 1.0mmol)(Skiles, J.W.等, 药物化学杂志, 35, 641(1992))与 3-氨基-2-羟基-4-甲基戊酸甲酯(161mg, 1.0mmol)(Peet, N.P.等, 药物化学杂志, 33, 394(1990))偶联, 得到标题化合物。

b) CBZ-Val-N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)Gly-Val-CO₂CH₃ 的制备

按照实施例 5(c)所述的氧化方法, 由实施例 14(a)的产物(233mg, 0.5mmol)制备该标题化合物。

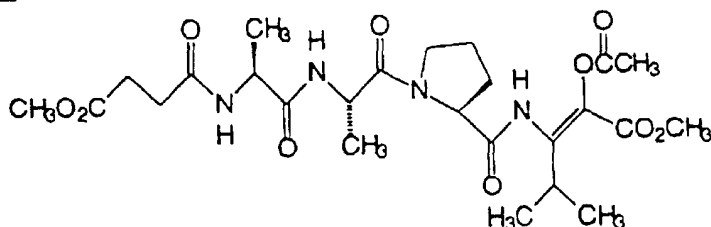
c) N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-甲基-甘氨酸胺, (E)-异构体的制备

方案 A: 将实施例 14(b)的产物(93mg, 0.20mmol)用乙酸酐(0.19ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理, 然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离, 得到标题化合物。

实施例 15

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (Z)-异构体(SED. ID NO.

8)的制备

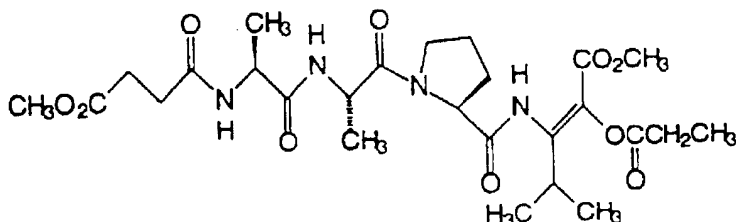


方案 A: 在氮气氛围下, 往搅拌和加热回流下的吡啶(1.25ml)和 MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-CO₂CH₃(156mg, 0.30mmol)的溶液中滴加乙酸酐(0.29ml, 3.0mmol)。回流 30 分钟后, 冷却该反应混合物, 将该反应混合

物用二氯甲烷(30ml)稀释并用 0.3N HCl(2 x 20ml), 再用盐水(15ml)洗涤。干燥(硫酸镁)、过滤并浓缩, 得到粗产物。进行快速层析, 用丙酮的乙酸乙酯溶液梯度洗脱(25-50%), 得到标题化合物。

实施例 16

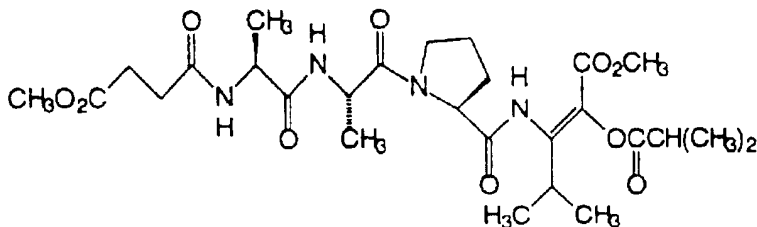
N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙胺酰-L-丙胺酰-N-[2-(1-氧代丙氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-异构体(SED. ID NO. 9)的制备



方案 A: 将 MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-CO₂CH₃(103mg, 0.20mmol)用丙酸酐(0.26ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理, 然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离, 得到标题化合物。

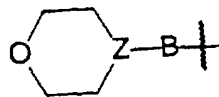
实施例 17

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙胺酰-L-丙胺酰-N-[2-(2-甲基-1-氧代丙氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-异构体(SED. ID NO. 10)的制备

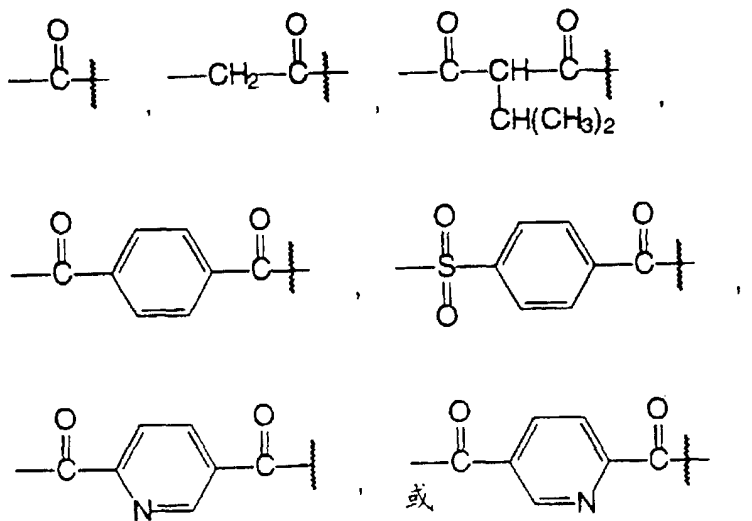


方案 A: 将 MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-CO₂CH₃(103mg, 0.20mmol)用异丁酸酐(0.33ml, 2.0mmol)的吡啶(1.0ml)溶液处理, 然后以类似于实施例 1 所述的方法进行制备性 TLC 分离, 得到标题化合物。

本发明主题化合物的优选实施方案在以下式 I 和 IA 化合物中得以实现, 式 I 和 IA 化合物中 R_1 是异丙基或正丙基; 优选异丙基; R_2 是 (C_1-C_4) 烷基或苯基; 优选 (C_1-C_4) 烷基; R_3 是 (C_1-C_4) 烷基或苯基; 优选 (C_1-C_4) 烷基; P_2 是 Pro、Pip、Aze、Pro(4-OBzl) 或 Gly, 其中 α -氨基的氮原子被 R 基取代, 其中 R 是 (C_1-C_6) 烷基、苯基、苄基、环己基、环己基甲基、环辛基、2-双环[2.2.1]己基、吗啉基、哌啶基、吡啶基或四氢喹啉, 优选 Pro; P_3 是 Ile、Val 或 Ala; P_4 是 Ala 或缺失并且 K 是乙酰基、叔丁氧羰基、琥珀酰基、甲氧基琥珀酰基、4-((氯苯基)磺酰氨基羰基)-苯甲酰基, 或者是下式的基团



其中 Z 是 N 或 CH, B 是下式的基团



优选化合物的具体实例包括:

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙胺酰-L-丙胺酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (E)-; (SEQ. ID NO.6)

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙胺酰-L-丙胺酰-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸酰胺, (Z)-; (SEQ. ID NO.8)

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-异亮氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-丙基-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-;

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-;

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (Z)-;

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-氨基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-;

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-氨基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (Z)-;

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[1-(1-甲基乙基)-3-氧代-2-(乙酰氧基)-3-(苯氨基)-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-;

N-乙酰基-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-;

N-乙酰基-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (Z)-;

N-乙酰基-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-;

N-乙酰基-L-脯氨酸-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (E)-; (SEQ. ID NO. 7)

N-[4-(4-吗啉甲酰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (E)-;

N-[4-(4-吗啉甲酰基)苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (Z)-;

N-(4-吗啉甲酰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (E)-;

N-(4-吗啉甲酰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (Z)-;

N-(2-咪喃甲酰基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (E)-;

N-[(四氢-2H-吡喃-4-基)羧基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (E)-;

N-[3-(4-吗啉基)-1,3-二氧代丙基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (E)-;

N-[3-(3-吡啶基)丙酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-乙氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-甘氨酸胺, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-甘氨酸胺, (Z)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-甲基-甘氨酸胺, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-甲基-甘氨酸胺, (Z)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-环戊基-甘氨酸胺, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-环辛基-甘氨酸胺, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-N²-苜基-甘氨酸胺, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[2-(1-氧代丙氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[2-(2-甲基-1-氧代丙氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸胺, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-4-噻唑烷甲酰胺, (E)-;

N-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-4-噻唑烷甲酰胺, (E)-;

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-1,2,3,4-四氢-3-异喹啉甲酰胺, (E)-; 和

N-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-1,2,3,4-四氢-3-异喹啉甲酰胺, (E)-。

在另外的实施方案中, 本发明还提供了一种治疗患与嗜中性白细胞有关的炎症疾病的患者的方法, 包括该所述患者施用治疗有效量的式 I 化合物。术语“与嗜中性白细胞有关的炎症疾病”是指特征为嗜中性白细胞迁移到炎症部位并参与生物基质的水解降解的疾病或症状。特别适于使用式 I 化合物治疗的与嗜中性白细胞有关的炎症疾病包括: 气肿、囊性纤维变性、成人呼吸紧张综合症、败血症、播散性血管内凝血、痛风、风湿性关节炎、慢性支气管炎和肠炎。特别优选用于治疗与嗜中性白细胞有关的炎症疾病的式 I 化合物包括:

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-; (SEQ. ID NO.6)

N-(4-甲氧基-1,4-二氧代丁基)-L-丙氨酸-L-丙氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (Z)-; (SEQ. ID NO.8)

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (E)-; 和

N-[4-[[[(4-氯苯基)磺酰基]氨基]羰基]苯甲酰基]-L-缬氨酸-N-[2-(乙酰氧基)-3-甲氧基-1-(1-甲基乙基)-3-氧代-1-丙烯基]-L-脯氨酸, (Z)-。

本文中采用的术语“患者”是指处于特定炎症疾病状态的温血动物, 如哺乳动物。应该理解豚鼠、狗、猫、大鼠、小鼠、马、牛、羊和人均是该术语所指范围内的实例。

术语“治疗有效量”是指对患者施用单次或多次剂量有效提供与嗜中性白细胞有关的炎症疾病症状缓解的量。本文采用的呼吸道疾病的“症状缓解”是指疾病的程度比未进行治疗时所预期的严重程度有所减轻，而不必需是指症状全部消除或治愈该疾病。在确定治疗有效量时，参与诊断者应考虑多种因素，包括，但不限于：哺乳动物的种类；其大小、年龄和健康状况；所涉及的特定疾病；疾病的严重程度；个体患者的反应；所施用的特定化合物；给药方式、给药制剂的生物利用度特性；选择的剂量方案；同时服用的药物；以及其它有关情况。

式 I 化合物的治疗有效量预计为每公斤患者体重每天约 0.1 毫克 (mg/kg/天) - 约 100mg/kg/天。优选量预计为约 0.5 毫克 - 约 10mg/kg/天。

本发明的化合物是高效弹性蛋白酶，尤其是人嗜中性白细胞弹性蛋白酶抑制剂的前药，或者它们自身是弹性蛋白酶抑制剂。据信本发明的化合物是通过对弹性蛋白酶的抑制作用而发挥它们的抑制作用并由此缓解弹性蛋白酶介导的疾病，所述疾病包括，但不限于气肿、囊性纤维变性、成人呼吸紧张综合症、败血症、播散性血管内凝血、痛风、风湿性关节炎、慢性支气管炎和肠炎。然而，应该理解的是本发明并不受任何理论或建议机制的限制来解释其应用有效性。

在对患上述疾病的患者治疗中，式 I 化合物可采用任何可以使有效量的式 I 化合物具有生物利用性的形式或方式给药，包括口服、气雾给药或经非胃肠途径给药。例如式 I 化合物可口服、通过雾化、皮下、肌内、静脉内、透皮、经鼻、经直肠和局部给药。口服或气雾给药通常是优选的。制备制剂的本领域普通专业人员很容易根据所选择化合物的特定性质、所治疗的疾病、疾病的阶段和其它相关情况选择合适的形式和服药方式。Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 18 版, Mack Publishing Co.(1990)。

化合物可单独给药或以与可药用载体或赋形剂组合的药物组合物形式给药，它们的比率和性质取决于所选择化合物的溶解度和化学性质、选择的给药途径和标准药学实践。本发明的化合物，虽然它们本身就有效，但仍可以可药用盐的形式配制和给药，如由于稳定性、易结晶性和提高溶解度等原因而使用酸加成盐。

在另一个实施方案中,本发明提供了含有式 I 化合物和与其混合或以其他方式结合的一种或多种惰性载体的组合物。这些组合物可用作测定标准、用作大量装运的方便手段或用作药物组合物。式 I 化合物的可测量是很容易通过本领域普通技术人员熟知和清楚的标准测定方法和技术测定的量。惰性载体是不降解式 I 化合物不与其共价反应的任何物质。适宜惰性载体的实例是水;缓冲水溶液,如常用于高压液相(HPLC)分析中的那些;有机溶剂,如乙腈、乙酸乙酯、己烷等;以及可药用载体或赋形剂。

更具体地说,本发明提供了含有治疗有效量的式 I 化合物和与其混合或以其他方式结合的一种或多种可药用载体或赋形剂的药物组合物。

药物组合物可采用药学领域熟知的方式制备。载体或赋形剂可以是固体、半固体或液体材料,它们可用作活性成分的载体或介质。适宜的载体或赋形剂是本领域公知的。药物组合物可以片剂、胶囊、栓剂、溶液或悬浮液等形式口服、经非胃肠或局部使用。

本发明的化合物可例如与惰性稀释剂或与可食载体一起口服。它们可包封于胶囊中或压制成片。为口服治疗给药,该化合物可与赋形剂结合,以片剂、含片、胶囊、酏剂、悬浮液、糖浆、糯米纸囊剂和嚼胶等形式使用。这些制剂应含有至少 4% 的活性成分,即本发明化合物,但可以有所变化,这取决于特定的形式,该含量可方便地占单位制剂重量的 4% - 70%。化合物存在于组合物中的量应是可获得合适剂量的量。本发明的优选组合物和制剂应制备为口服单位剂型含有 5.0-300 毫克本发明化合物的剂型。

片剂、小丸、胶囊和含片等也可含有一种或多种如下的助剂:粘合剂如微晶纤维素、西黄耆胶或明胶;赋形剂如淀粉或乳糖;崩解剂如藻酸、Primogel、玉米淀粉等;润滑剂如硬脂酸镁或 Sterotex;助流剂如胶态二氧化硅;和甜味剂如蔗糖或糖精;还可加入芳香剂如薄荷、水杨酸甲酯或橘精。当单位剂型为胶囊时,除上述类型的物质外,它还可含有液态载体如聚乙二醇或脂肪油。其它单位剂型可含有修饰单位剂型物理形式如包衣的其它各种物质。因此,片剂或小丸可使用糖、虫胶或其它肠溶衣材料包衣。除本发明化合物外,糖浆可含有作为甜味剂的蔗糖和某些防腐剂、颜料和着色剂以及芳香剂。用于制备这类各种组合物的材料应是药学的并

且在其使用量时是无毒的。

为经非胃肠治疗给药，可将本发明的化合物引入一种溶液悬浮液中。这些制剂应含有至少 0.1% 的本发明化合物，但也可以在占制剂重量的 0.1-50% 之间变化。该类组合物中存在的本发明化合物的量应可获得合适剂量。应制备本发明的优选组合物和制剂使非胃肠剂量单位含 5.0-100 毫克本发明化合物。

本发明的式 I 化合物可也以通过气雾剂给药。术语气雾剂是指从胶态性质到包括加压装置组成的各种体系。可通过液化或压缩气体或者通过分散活性成分的合适的泵系统进行输送。为输送活性成分，式 I 化合物的气雾剂可以单相、双相或三相体系输送。气雾剂的输送包括必需的容器、活化剂、阀门和内装置等。优选的气雾剂可由本领域普通技术人员确定。

本发明的式 I 化合物还可局部给药，当进行局部给药时，载体可适当地含有溶液、软膏或凝胶基质。该制剂例如可含有一种或多种下述成分：石蜡、羊毛脂、聚乙二醇、蜂蜡、矿物油、稀释剂如水和醇以及乳化剂和稳定剂。局部制剂可含有约 0.1 - 约 10%w/v(每单位体积的重量)的式 I 化合物或其可药用盐。

一些合适的透皮体系记载于美国专利 3742951、3797494、3996934 和 4031894 中。这些体系通常含有作为其一个表面的支持膜和作为其另一个表面的活性物质可透过的粘性层，以及插入在两个表面之间的至少一个含活性物质的储库。或者，活性物质可包含在均匀分布在整个可透过性粘性层的多个微囊中。在每一种情况下，活性物质可从储库或微囊中透过膜连续释放到活性物质可透过的粘性层，该层与受治疗者的皮肤或粘膜接触。如果活性物质透过皮肤吸收，控制的和预定流量的活性物质可施用于受治疗者。在微囊情况下，包囊物质也可起膜的作用。

在另一种透皮给药本发明化合物的体系中，药物活性化合物包含在基质中并从该基质中以所需的逐步的、恒定的和控制的速率释放。该基质是可透过的，它通过扩散和微孔流释放化合物。该释放是速率控制型的。这种不需要膜的体系记载于美国专利 3921636 中。在这些体系中，至少可有两种释放类型。药物活性化合物自身溶于或扩散于基质中。当药物活性化合物转运到基质孔中的液相时，通过微孔流的释放就发生了。

溶液或悬浮液可包括一种或多种下述助剂：无菌稀释剂如注射用水、盐水溶液、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂；抗菌剂如苯甲醇或对羟苯甲酸甲酯；抗氧化剂如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂如乙二胺四乙酸；缓冲剂如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐和调节渗透压的物质，如氯化钠或葡萄糖。经非胃肠给药的制剂可包封在安瓿、一次性注射器或多次剂量(玻璃或塑料)瓶中。

在体内，式 I 化合物通过弹性蛋白酶转化为已知具有人弹性蛋白酶抑制剂活性的化合物。例如，式 I 化合物转化为欧洲专利申请 OPI 第 0195212 号(1986 年 9 月 24 日公开)和 Peet N.P.等在药物化学杂志，33：394 - 407(1990)中公开的化合物，所述文献全文引入本文以供参考。

化合物抑制弹性蛋白酶或作为弹性蛋白酶抑制剂的前药的活性，以及式 I 和 IA 化合物在治疗与嗜中性白细胞有关的炎症疾病的有用性在体外和体内模型中均得到明确和可靠的证实。

实施例 18

在 MDL 104569 和猪肝弹性蛋白酶的存在下体外测定弹性蛋白酶

使用市售的生色底物 N-MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-对硝基苯酰胺 ([S]=0.20mM; $K_m=0.16\text{mM}$)测定弹性蛋白酶。测定技术类似于 Mehdi 等在生物化学和生物物理学研究通讯，166, 595(1990)中所述。测定混合物由在 0.1M HEPES(pH 7.5), 0.5M NaCl, 10%DMSO 和 0.1%Brij 35 中的部分纯化的弹性蛋白酶和底物(0.2mM)组成。反应(1 或 2ml, 在塑料比色杯中)保持在 37 °C, 底物的水解在 MDL 104569 和 5 单位/ml 的猪肝弹性蛋白酶 (Sigma Chemical Co., cat. no. E-3128)的存在下进行。弹性蛋白酶是从人脾中分离的，虽然该酶最近已有市售。将不加抑制剂和前药时底物的水解率定为 100 %。在 1 μM MDL 104569 的存在下，测得 81 %的水解率；当弹性蛋白酶(猪肾, Sigma Chemical Co.)也存在时，该水解率降低到 24 %。在浓度为 10 μM 时，在弹性蛋白酶存在下，从测定的最终抑制程度观察到的 K_i 值为 130 nM，相比之下独立测得的母体化合物的 K_i 值为 200 nM。

实施例 19

在 MDL 105565 和猪肝弹性蛋白酶的存在下体外测定弹性蛋白酶

采用实施例 18 所述的技术和方法, 在 MDL 105565 存在下体外测定弹性蛋白酶。使用浓度为 10 nM 的 MDL 105565, 获得的水解率为 99%; 当加入弹性蛋白酶时, 该水解率为 76%。在浓度为 45 nM 时, 该水解率为 94%(不加弹性蛋白酶)和 37%(加弹性蛋白酶)。在此, 计算游离药物的 K_i 值为 13 nM, 相比之下独立测定的 K_i 值为 2 nM。

实施例 20

HNE 诱导的仓鼠肺出血

使用肺出血模型测定由 HNE 诱导的急性肺损伤, 所述模型描述, 例如参见 Fletcher, D. S.等, Am. Rev. Respir. Dis., 141:672-677(1990); Skiles, J.W., 药物化学杂志, 35:642-662(1992); Shah, S.K.等, 药物化学杂志, 35:3745-3754(1992)或 Durham, S.L.等, J. Pharm. Exp. Ther., 270:185-191(1994)。如先前 Schranfnagel, D.等在 Am. Rev. Resp. Dis., 129:A324(1984)中所述, 将 HNE(10-25 μ g/仓鼠, 在 0.05M 乙酸钠缓冲的盐水中)滴注到二氧化碳麻醉的重 75 - 125g 的雄性 Golden Syrian 仓鼠(Charles River, Kingston, NY)中。使用定位在仓鼠喉处的纤维光源用均匀的 20 号的 3 英寸不锈钢针插入气管的气管隆凸前的位置。HNE 或载体的体积为约 100 μ l。动物通过用二氧化碳窒息 1 小时后安死, 通过切割肝下的下腔静脉放血。使气管暴露并插入 PE-100(Clay Adams, Parsippany, NJ)套管, 通过轻轻滴注回收单一体积盐水(0.04ml 盐水/g)三次, 收集 BAL 液。使用分光光度计测定 BAL 液中红血球含量并相对 Hgb 标准曲线定量。结果以毫克/毫升 Hgb \pm 标准偏差表示。

通过在滴注 HNE 之前或之后, 经口、静脉或滴注给予一定剂量的式 I 或 IA 化合物测定对 HNE 诱导的肺出血的抑制。式 I 或 IA 化合物给药的载体是 20% 依沫浮/水(经口)、0.2% 三乙胺/盐水(静脉)和 10% 二甲亚砜(滴注)。在所有的实验中均包括适当的载体对照。使用与 1 ml 注射器(5ml/kg)相连的 20 号弯曲给药针经口给予仓鼠药物或载体(5ml/kg)。使用与 1 ml 注射器相连的 26 号 1/2 英寸针经颈静脉注射(2ml/kg)。药物和载体的气管内施用如上在 HNE 滴注中所述。

序列表**(1) 一般信息:****(i) 申请人:**

- (A) 名称: Hoechst Marion Roussel, Inc.**
- (B) 街道: 2110 E, Galbraith Rd., P.O. Box 156300**
- (C) 城市: Cincinnati**
- (D) 州: Ohio**
- (E) 国家: USA**
- (F) 邮政编码(ZIP): 45215-6300**
- (G) 电话: 513-948-6566**
- (H) 传真: 513-948-7961 或 4681**
- (I) 电报: 214320**

(ii) 发明题目: α -酮酯和 α -酮酰胺的酰化烯醇衍生物

(iii) 序列数: 10

(iv) 计算机阅读:

- (A) 介质类型: 软盘**
- (B) 计算机: IBM PC 兼容机**
- (C) 操作系统: PC-DOS/MS-DOS**
- (D) 软件: PatentIn Release #1.0, #1.30 版(EPO)**

(vi) 在先申请日:

- (A) 申请号: US 08/566,196**
- (B) 申请日: 1995 年 12 月 1 日**

(2) SEO ID NO:1 的信息:

(i) 序列特征:

- (A) 长度: 4 个氨基酸**
- (B) 类型: 氨基酸**
- (C) 链:**
- (D) 拓扑学: 线性**

(ii) 分子类型: 肽

(xi)序列描述: SEQ ID NO: 1:

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:2 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(C)链:

(D)拓扑学: 线性

(ii)分子类型: 肽

(iii)序列描述: SEQ ID NO: 2:

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:3 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(C)链:

(D)拓扑学: 线性

(ii)分子类型: 肽

(iii)序列描述: SEQ ID NO: 3:

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEQ ID NO:4 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(C)链:

(D)拓扑学: 线性

(ii)分子类型: 肽

(iii)序列描述: SEQ ID NO: 4:

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEO ID NO:5 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(C)链:

(D)拓扑学: 线性

(ii)分子类型: 肽

(iii)序列描述: SEQ ID NO: 5:

Xaa Xaa Xaa Xaa

1

(2)SEO ID NO:6 的信息:

(i)序列特征:

(A)长度: 4 个氨基酸

(B)类型: 氨基酸

(C)链:

(D)拓扑学: 线性

(ii)分子类型: 肽

(iii)序列描述: SEQ ID NO: 6:

Ala Ala Pro Xaa

1

(2)SEO ID NO:7 的信息:

(i)序列特征:**(A)长度: 4个氨基酸****(B)类型: 氨基酸****(C)链:****(D)拓扑学: 线性****(ii)分子类型: 肽****(iii)序列描述: SEQ ID NO: 7:****Pro Ala Pro Xaa****1****(2)SEO ID NO:8 的信息:****(i)序列特征:****(A)长度: 4个氨基酸****(B)类型: 氨基酸****(C)链:****(D)拓扑学: 线性****(ii)分子类型: 肽****(iii)序列描述: SEQ ID NO: 8:****Ala Ala Pro Xaa****1****(2)SEO ID NO:9 的信息:****(i)序列特征:****(A)长度: 4个氨基酸****(B)类型: 氨基酸****(C)链:****(D)拓扑学: 线性****(ii)分子类型: 肽****(iii)序列描述: SEQ ID NO: 9:**

Ala Ala Pro Xaa**1****(2)SEO ID NO:10 的信息:****(i)序列特征:****(A)长度: 4 个氨基酸****(B)类型: 氨基酸****(C)链:****(D)拓扑学: 线性****(ii)分子类型: 肽****(iii)序列描述: SEQ ID NO : 10 :****Ala Ala Pro Xaa****1**